

9. LEBENSLAUF

Angaben zur Person:

Name: Köstner, Kim Karola
 Wohnort: Franz-Lehar-Weg 5
 D-89160 Dornstadt
 Geburtstag: 24.11.1982
 Geburtsort: Temeschburg
 Familienstand: ledig
 Nationalität: deutsch
 Vater: Dr. Köstner, Egon Ferdinand, Facharzt für Anästhesie
 Mutter: Dipl. Ing. Weirather-Köstner, Dagmar Franziska

Schulische Ausbildung:

1989-1993: Bühlgrundschule Dornstadt
 1993-2002: Schubart-Gymnasium, Ulm
 Juli 2002: Abitur in Ulm
 (Endnote: 1,1; Preis der Robert-Bosch-Stiftung für gute Leistung im Fach Französisch)

Medizinstudium:

2002-2009: Studium der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes
 März 2007- Juni 2007: Studium im Rahmen des ETCS an der Universität von Perugia, Italien
 Oktober 2004-Juli 2005: Studium im Rahmen des ETCS an der Universität von La Laguna, Teneriffa

Praktisches Jahr:

25.08.2008-15.12.2008: 1. Terial in Dermatologie an der Universitätsklinik Homburg
 15.12.2008-04.04.2009: 2. Terial in Chirurgie m Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Frankreich
 05.04.2009- 30.07.2009: 3. Terial in Innere Medizin Hôpital de Sion, Schweiz

Famulaturen:

Oktober 2006: Innere Medizin, Universitätsklinik La Laguna, Teneriffa, Spanien
 August-September 2006: Allgemeinmedizin, Privatpraxis der Allgemeinmedizin, Nassenfels; Deutschland
 Juli 2006: Anaesthetie, städtisches Krankenhaus, Intensivstation, Oradea, Rumänien
 Februar 2006-März 2006: Gynäkologie, Universitätsklinik La Laguna, Teneriffa, Spanien
 Juli 2005-August 2005: Innere Medizin, Endokrinologie, Allgemeines Krankenhaus, Wien, Österreich
 April 2005: 2-wöchige Famulatur Allgemeinmedizin , Centro de Salud, Santa Cruz, Teneriffa, Spanien

8. Publikationen:

Köstner K, Denzer N, Müller CS, Klein R, Tilgen W, Reichrath J: The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature
Anticancer Res 29 (9): 3511-36, 2009

7. DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr. J. Reichrath danke ich für die Überlassung des Themas, die stetige Präsenz und Unterstützung in allen Phasen der Arbeit.

Herrn Univ.-Prof. Dr. W. Tilgen danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Gewährleistung der Durchführung und Fertigstellung der vorliegenden Disseratation.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. N. Denzer für ihre zahlreichen Anregungen zur Bearbeitung des Themas und für ihre stetige Betreuung.

Besonderer Dank gilt Prof. Gräber vom Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik für seinen Rat und Unterstützung in der statistischen Auswertung meiner Arbeit.

Für die Durchführung der DNA-Sequenzierung in dem Forschungslabor Seq-It GmbH & Co., Kaiserslautern danke ich Dr. Klein und seinen Mitarbeitern, vor allem Marion für die herausragende Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich bei Frau A. Kerber, Frau A. Stark, Frau H. Palm und Frau A. Weinhold, die mich in die Techniken der Laborarbeit einarbeiteten und mir hilfreich zur Seite standen.

Die Fertigstellung der Arbeit wäre ohne die Hilfe und Unterstützung meiner Familie und meines Freundes Michael nicht möglich gewesen. Dafür möchte ich Ihnen danken.

- 146 Wei Q, Lee JE, Gershenwald JE, Ross MI, Mansfield PF, Strom SS, Wanf LE, Guo Z, Qiao Y, Amos CI, Spitz MR, Duvic M. Repair of UV-light induced DNA damage and risk of cutaneous malignant melanoma. *J. Natl Cancer Inst* 95: 308-315, 2003
- 147 Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, Haussler CA, Galligan MA, Thatcher ML, Encinas Dominguez C, Haussler MR. Funktionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol* 177: 145-159, 2001
- 148 Xie Z, Bikle DD. Differential regulation of vitamin D response elements in normal and transformed keratinocytes. *J Invest Dermatol* 110: 730-733; 1998
- 149 Yaylim-Eraltan I, Arzu Ergen H, Arikan S, Okay E, Oztürk O, Bayrak S and Isbir T: Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct* 25: 731-737, 2007
- 150 Yang S, Smith C, Prahl JM, Luo X, DeLuca HF. Vitamin D deficiency suppresses cell-mediated immunity in vivo. *Arch Biochem Biophys* 303(1): 98-106, 1993
- 151 Yung A, Newton- Bishop JA: A case of Bazex-Dupre-Christol syndrome associated with multiple genital trichoepiteliomas. *Brit. J. Derm.* 153: 664-699, 2005
- 152 Zittennan A, Schulze Schleithoff S, Tenderich C, Berthold H, Koefer R, Stehle P: Low vitamin D status: A contribution factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *Journal of the American College of Cardiology* 41 (1): 105-112, 2003

- 135 Sturzenbecker L, Scardaville B, Kratzeisen C, Katz M, Abarzua P and Mc Lane J: Isolation and analysis of cDNA encoding a naturally occurring truncated form of the human vitamin D receptor. In: Boiulon R, Norman A and Thomasset M, Vitamin D: A Pluripotent Steroid Hormone: Structural studies. Molecular Endocrinology and Clinical Applications Walter de Gruyter, Berlin, pp 253-257, 1994
- 136 Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y, DeLuca HF. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary and parathyroid. *Science* 209: 1189-1298, 1979
- 137 Suzuki K, Matsui H, Ohtake N, Nataka S, Takei T, Koike H, Nakazato H, Okugi H, Hasumi M, Fukabori Y, Kurokawa K, and Yamanaka H: Vitamin D receptor gene polymorphism in familial prostate cancer in a Japanese population. *Int J Urol* 10: 261-266, 2003
- 138 Tayeb MT, Clark C, Haites NE, Sharp L, Murray GI and McLeod HL: CYP3A4 and VDR gene polymorphisms and the risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. *Br J Cancer* 88: 928, 2003
- 139 Tayeb MT, Clark C, Haites NE, Sharp L, Murray GI, McLeod HL: Vit D receptor, HER-2 polymorphisms and risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. *Saudi Med J* 25: 447-445, 2004
- 140 Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler J and Bell DA: Association of prostate cancer with Vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer Res* 56: 4108-4110, 1996
- 141 The International HapMap Consortium: The International HapMap Project. *Nature* 426: 789-796, 2003
- 142 Uitterlinden AG, Pols HA, Burger H, Huang Q, Van Daele PL, van Duijn CM, Hofman A, Birkenhager JC and van Leeuwen JP: A large-scale population-based study of the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. *J Bone Miner Res* 11: 1241-1248, 1996
- 143 Uitterlinden SG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA and van Leeuwen JP: Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 338: 143-156, 2004
- 144 Watanabe M, Fukutome K, Murata M, Uemura H, Kubota Y, Kawamura J and Yatani R: Significance of Vit D receptor gene polymorphism for prostate cancer risk in Japanese. *Anticancer Res* 19: 4511-4514, 1999
- 145 Welsh J. Induction of apoptosis in breast cancer cells in response to vitamin D and antiestrogens. *Biochem Cell Biol* 11: 537, 1994

- (eds.) Vitamin D: Gene Regulation, Structure-Function Analysis and Clinical Application. Walter de Gruyter: Berlin pp 445-446, 1991
- 124 Reichrath J, Kamradt Zhu XH, Kong XF, Tilgen W, Holick MF. Analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors (VDR) in basal cell carcinomas. *Am J Pathol* 155: 583-589, 1999
- 125 Reichrath J, Rafi L, Rech M, Mitschele T, Meineke V, Gärtner BC, Tilgen W, Holick MF. Analysis of the vitamin D system in cutaneous squamous cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 31: 224-231, 2004
- 126 Reintgen DS, Cox C, Slingluff CLJ, Seigler HF. Recurrent malignant melanoma: the identification of prognostic factors to predict survival. *Ann. Plast. Surg* 28: 45-49, 1992.
- 127 Rosso S, Sera F, Segnan N, Zanetti R. Sun exposure prior to diagnosis is associated with improved survival in melanoma patients: results from a long-term follow-up study of Italian patients. *Eur J Cancer* 44: 1275-1281, 2008
- 128 Rowe DE, Carroll RJ, Day CL: Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear and lip. Implications for treatment modality selection. *J Am Acad Dermatol* 26: 976-999, 1992
- 129 Santonocito C, Capizzi R, Concolino P, Lavieri MM, Paradisi A, Gentileschi S, Torti E, Rutella S, Rocchetti S, Di Carlo A, Di Stasio E, Ameglio F, Zuppi C and Capoluongo E: Association between cutaneous melanoma, Breslow thickness and vitamin D receptor BsmI polymorphism. *Br J Dermatol* 156: 277-282, 2007
- 130 Sebag M, Henderson J, Rhim J, Kremer R. Relative resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in a keratinocyte model of tumor progression . *J. Biol. Chem* 267: 12162-12167, 1992
- 131 Seifert M, Rech M, Meinecke V, Tilgen W, Reichrath J: Differential biological effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ on melanoma cell lines in vitro. *J Steroid Biochem Mol* 89-90: 375-379, 2004
- 132 Sillanpää P, Hirvonen A, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Uusitupa M, Vainio H and Mitrunen K: Vitamin D receptor gene polymorphism as an important modifier of positive family history related breast cancer risk. *Pharmacogenetics* 14: 239-245, 2004
- 133 Slattery ML, Yakumo K, Hoffman M and Neuhausen S: Variants of the VDR gene and risk of colon cancer (United States). *Cancer Causes Control* 12: 359-364, 2001
- 134 Smith EL, Walworth NC, Holick MF. Effect of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ on the morphologic and biochemical differentiation of cultured human epidermal cells. *J Invest Dermatol* 86: 709-714, 1986

- 111 Nürnberg B, Schadendorf D, Gartner B, et al. Progression of Malignant Melanoma is associated with reduced 25-Hydroxyvitamin D serum levels. *Exp Derm* 17: 627, 2008
- 112 Oakley-Girvan I, Feldman D, Eccleshall TR, Gallagher RP, Wu AH, Kolonel LN, Halpern J, Balise RR, West DW, Paffenbarger RS Jr and Whittemore AS: Risk of early-onset prostate cancer in relation to germ line polymorphisms of the vit D receptor. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13: 1325-1330, 2004
- 113 Obara W, Suzuki Y, Kato K, Tanji S, Konda R and Fujioka T: Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with increased risk and progression of renal cell carcinoma in a Japanese population. *Int J Urol* 14: 483-487, 2007
- 114 Onsory K, Sobti RC, Al-Badran AI, Watanabe M, Shiraishi T, Krishan A, Mohan H and Kaur P: Hormone receptor-related gene polymorphisms and prostate cancer risk in North Indian population. *Mol Cell Biochem*, 314: 25-35, 2008
- 115 Ordonez-Moran P, Larriba MJ, Pendas-Franco N. et al. Vitamin D and cancer: an update of in vivo and in vitro data. *Front Biosci* 10: 2723-2749, 2005
- 116 Oberyshyn TM. Non-melanoma skin cancer: importance of gender, immunosuppressive status and vitamin D. *Cancer Lett* 261: 127-136, 2008
- 117 Petter G, Haustein UF: Histological and clinical prognostic factors in squamous cell carcinoma of the skin. A contribution to the multicenter carcinoma study of the association of surgical and oncological dermatology; *Hautarzt* 50(6): 412-417, 1999
- 118 Prystowsky Jh, Muzio PJ, Sevrans S, Clemens S, Clemens TL. Effect of UVB phototherapy and oral calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D₃) on vitamin D photosynthesis in patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 35: 690-695, 1996
- 119 Rajakumar K. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics* 112 (2): 132-135, 2003
- 120 Ranson M, Posen S, Mason RS: Human Melanocytes as a target tissue for hormones: in vitro studies with 1 alpha-25, dihydroxyvitamin D₃, alpha –melanocyte stimulating hormone, and beta-estradiol. *J Invest Dermatol* 91: 593-598, 1988
- 121 Ratnam AV, Bikle DD, Su MJ, Pillai S. Squamous carcinoma cell lines fail to respond to 1,25-Dihydroxyvitamin D despite normal levels of the vitamin D receptor. *J Invest Dermatol* 106: 522-525, 1996
- 122 Ravanat JL, Douki T, Cadet J. Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components. *J Photochem. Photobiol. B* 63: 88-102, 2001
- 123 Reichrath J, Hügel U, Klaus G, et al. Modulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor (VDR) expression in HaCaT keratinocytes. In: Norman AW, Bouillon R, Thomasset M

- 99 Miller SJ: Biology of basal cell carcinoma (Part II). *J. Am. Acad. Dermatol.* 24: 161-175, 1991b
- 100 Mitschele T, Diesel B, Friedrich M, Meineke V, Maas RM, Gärtner BC, Kamradt J, Meese E, Tilgen W, Reichrath J. Analysis of the vitamin D system in basal cell carcinomas (BCCs). *Laboratory Investigation* 84: 693- 702, 2004
- 101 Moll I, *Duale Reihe Dermatologie*, Thieme Verlag Stuttgart, 6.Auflage, 319-323, 2005
- 102 Moll R, Franke WW, Volc-Platzer B, Krepler R: Different polypeptides in epidermis and other epithelia of human skin: A specific cytokeratin of molecular weight 46.000 in epithelia of the pilosebaceous tract and basal cell epitheliomas. *J. Cell. Biol.* 95: 285-293, 1982
- 103 Mooney EE, Ruis Peris JM, O'Neill A, Sweeney EC: Apoptotic and mitotic indices in malignant melanoma and basal cell carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 48: 242-244, 1995
- 104 Morrison NA, Yeoman, R, Kelly PJ, Eisman JA: Contribution of transactivating factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 6665-6669, 1992
- 105 Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN and Eisman JA: Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367: 284-287, 1994
- 106 Müller K, Bendtzen K. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ as a natural regulator of human immune functions. *The Journal of Investigative Dermatology. Symposium Proceedings* 1: 68-71, 1996
- 107 Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 26: 662-687, 2005
- 108 Nejentsev S, Godfrey L, Snook H, Rance H, Nutland S, Walker NM, Lam AC, Guya C, Ionescu-tirgoviste C, Undlien DE, Ronnigen KS, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Newport MJ, Clayton DG, Todd JA. Comparative high-resolution analysis of linkage disequilibrium and tag single nucleotide polymorphisms between populations in the vitamin D receptor gene. *Hum Mol genet* 13: 1633-1639, 2004
- 109 Newton BJ, Beswick S, Jackson S, et al. Vitamin D and survival from melanoma. *Melanoma Res* 16: 26, 2006
- 110 Ntais C, Polycarpou A and Ioannidis JPA: Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 12: 1395-1402, 2003

- 88 Lundin AC, Söderkvist P, Eriksson B, Bergman-Jungeström M and Wingren S: Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism South-East Sweden Breast Cancer Group. *Cancer Res* 59: 2332-2334, 1999
- 89 Lurie G, Lyenne R Wilkens, Pamela J Thompson, Katherine E McDuffie, Michael E Carney, Keith Y Terada and Marc T Goodman: Vitamin D receptor gene polymorphisms and epithelial ovarian cancer risk. *Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 2566-2571, 2007
- 90 Luscombe CJ, French ME, Liu S, Saxby MF, Jones PW, Fryer AA and Strange RC: Prostate cancer risk: associations with ultraviolet radiation, tyrosinase and melanocortin-1 receptor genotypes. *Br J Cancer* 85: 1504-1509; 2001
- 91 Ma J, Stampfer MJ, Gann PH, Hough HL, Giovannucci E, Kelsey KT, Hennekens CH and Hunter DJ: Vitamin D receptor polymorphisms, circulating Vit D metabolites, and risk of prostate cancer in United states physicians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 385-390, 1998
- 92 Maistro S, Snitcovsky I, Sarkis AS, da Silva IA and Bretani MM: Vitamin D receptor polymorphism in and prostate cancer risk in Brazilian men. *Int J Biol Markers* 19: 245-249, 2004
- 93 Majewski S, Skopinska M, Bollag W, Jablonska S. Combination of isotretinoin and calcitriol for precancerous and cancerous skin lesions. *Lancet* 344: 1510-1511, 1994
- 94 Matsumoto K, Azuma Y, Kiyoki M, Okumura H, Hashimoto K, Yoshikawa K. Involvement of endogenously produced 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the growth and differentiation of human keratinocytes. *Biochim Biophys Acta* 1092: 311-318, 1991
- 95 McCullough ML, Stevens VL, Diver WR, Feigelson HS, Rodriguez C, Bostick RM, Thun MJ and Calle EE: Vit D pathway gene polymorphisms, diet, and risk of postmenopausal breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* 9: R9, 2007
- 96 Medeiros R, Morais A, Vasconcelos A, Costa S, Pinto D, Oliveira J and Lopes C: The role of Vitamin D receptor gene in the susceptibility to prostate cancer of a Southern European population. *J Hum Genet* 47: 413-418, 2002
- 97 Milde P, Hauser U, Simon T, Mall G, Ernst V, Haussler MR, Frosch P, Rauterberg EW : Expression of 1,25, dihydroxyvitamin D₃ receptors in normal and psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 97: 230-239, 1991
- 98 Miller SJ: Biology of basal cell carcinoma (Part I), *J. Am. Acad. Dermatol* 24, 1-13, 1991a

- 75 Kane CL; Keehn CA, Smithberger E, Glass LF: Histopathology of cutaneous squamous cell carcinoma and its variants. *SEmin Cutan Med Surg* 23(1): 54-61; 2004
- 76 Kerl H, Garbe C, Cerroni L, Wolff HH: *Histopathologie der Haut*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 2003
- 77 Kerr JFR, Searle J: A suggested explanation for the paradoxically slow growth rate of basal cell carcinomas that contain numerous mitotic figures. *J.Pathol.* 107: 41-44, 1972
- 78 Khanna M, Fortier-Riberdy G, Dinehart SM, Smoller B: Histopathologic evaluation of cutaneous squamous cell carcinoma: Results of a survey among dermatopathologists. *J Am Acad Dermatol* 48: 721-726, 2003
- 79 Kibel AS, Isaacs SD, Isaacs WB and Bova GS: Vitamin D receptor polymorphisms and lethal prostate cancer. *J Urol* 60: 1405-1409, 1998
- 80 Krickler A, Armstrong BK, English DR: Sun exposure and non-melanotic skin cancer. *Cancer Causes Control* 5(4):367-392, 1994
- 81 Krishnan AV, Cramer SD, Bringhurst FR, Feldman D. Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors by parathyroid hormone in osteoblastic cells: role of second messenger pathways. *Endocrinology* 136: 705-712, 1995
- 82 Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. *Br J Dermatol* 146: 17-19, 2002
- 83 Lavrijsen APM, Tieben LM, Ponc M, Van der Schroeff JG, Van Muijen GNP: Expression of EGF receptor, involucrin, and cytokeratins in basal cell carcinomas and squamous cell carcinomas of the skin. *Arch. Dermatol. Res* 281, 83-92, 1989
- 84 Lehmann B, Genehr T, Knuschke P, Pietzsch J, Meurer M. UVB-induced conversion of 7-dehydrocholesterol to 1 α 25-dihydroxyvitamin D₃ in an in vitro human skin equivalent model. *J Invest Dermatol* 117: 1179- 1185, 2001
- 85 Lehmann B, Sauter W, Knuschke P, Dreßler S, Meurer M. Demonstration of UVB-induced synthesis of 1 α 25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) in human skin by microdialysis. *Arch Dermatol Res* 295: 24-28, 2003
- 86 Li C, Liu Z, Zhang Z, Strom SS, Gershenwald JE, Prieto VG, Lee JE, Ross MI, Mansfield PF, Cormier JN, Duvic M, Grimm EA and Wei Q: Genetic variants of the vitamin D receptor gene alter risk of cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 127: 276-280, 2007
- 87 Li C, Liu Z, Wang LE, Gershenwald JE, Lee JE, Prieto VG, Duvic M, Grimm EA and Wei Q: Haplotype and genotypes of the VDR gene and cutaneous melanoma risk in non-Hispanic whites in Texas: a case-control study. *Int J Cancer* 122: 2077-2084, 2008

- and CYP24A1 in Prostate Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 1990-1999, 2007
- 65 Hou MF, Tien YC, Lin GT, Chen CJ, Liu CS, Lin SY and Huang TJ: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with sporadic breast cancer in Taiwanese patients. *Breast cancer Res Treat* 74: 1-7, 2002
- 66 Huang SP, Chou YH, Wayne Chang WS, Wu MT, Chen YY, Yu CC, Wu TT, Lee YH, Huang JK, Wu WJ and Huang CH: Association between Vit D Receptor polymorphisms and prostate cancer risk in a Taiwanese population. *Cancer Lett* 207: 69-77, 2004
- 67 Hustmyer FG, Deluca HF, Peacock M: Apa1, Bsm1, EcoRV and Taq1-polymorphisms at the human vitamin D receptor gene locus in Caucasians, Blacks, and Asians. *Hum Mol Genet* 2: 487, 1993
- 68 Hutchinson PE, Osborne JE, Lear JT, Smith AG, Bowers PW, Morris PN, Jones PW, York C, Strange RC and Fryer AA: Vitamin D receptor polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 2: 498-504, 2000
- 69 Ikuyama T, Hamasaki T, Inatomi H, Katoh T, Muratani T and Matsumoto T: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with renal cell carcinoma.in Japanese. *Endocr J* 49: 433-438, 2002
- 70 Ingles SA, Haile RW, Henderson BE, Kolonel LN, Nakaichi G, Shi CY, Yu MC, Ross KR and Cortzee GA: Strength of linkage disequilibrium between two vitamin D receptor markers in 5 ethnic groups: implications for association studies. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 6: 93-98, 1997
- 71 Itin PH, Pittelkow, MR, Kumar R. Effects of vitamin D metabolites on proliferation and differentiation of cultured human epidermal keratinocytes grown in serum-free or defined culture medium. *Endocrinology* 135: 1793-1798, 1994
- 72 John EM, Schwartz GG, Koo J, Wang W and Ingles SA: Sun Exposure, Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms, and Breast Cancer Risk in a Multiethnic Population. *Am J Epidemiol.* 166: 1409-1419, 2007
- 73 Jurutka PW, Whitfield GK, Hsieh JC, Tompson PD, Haussler CA and Haussler MR: Molecular nature of vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev Endocrin Metab Disord* 2: 203-216, 2001
- 74 Kamradt J, Rafi L, Mitschele T, Meinecke V, Gartner BC, Tilgen W, Holick MF, Reichrath J. Analysis of the vitamin D system in cutaneous malignancies. *Recent Results Cancer Res* 164: 259-269, 2003

- 53 Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovanucci E, Wei M, Holick MF: Optimal Vitamin D Status for Colorectal Cancer Prevention: A Quantitative Meta Analysis. *Am J Prev Med*, 2007
- 54 Grant WB, Garland CF (2004): A critical review of studies on vitamin D in relation to colorectal cancer. *Nutrition and Cancer* 48 (2): 115-123
- 55 Gross C, Eccleshall TR, Mallory PJ, Villa ML, Marcus R and Feldman D: The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican American women. *J Bone Miner Res* 11: 1850-1855, 1996
- 56 Gsur A, Madersbacher S, Haidinger G, Schatzl G, Marberger M, Vutuc C and Micksche M: Vit D receptor gene polymorphism and prostate cancer risk. *Prostate* 51: 30-34, 2002
- 57 Habuchi T, Suzuki T, Sasaki R, Wang L, Sato K, Satoh S, Akao T, Tsuchiya N, Shimoda N, Wada Y, Koizumi A, Chihara J, Ogawa O and Kato T: Association of Vit D Receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res* 60: 305-308, 2000
- 58 Han J, Colditz GA and Hunter DJ: Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk *Carcinogenesis* 28: 390-397, 2007
- 59 Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW Thompson PD, Hsieh JC, Remus LS, Selznick SH, Whitfield GK. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinol* 154: Suppl: S57-S73, 1997
- 60 Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Dominguez CE, Jurutka PW. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone Miner. Res.* 13, 325-349, 1998
- 61 Hess AF. The contribution of biology, chemistry and physics to the newer knowledge of rickets. *Am J Public Health (N Y)* 12 (2): 104-107, 1922
- 62 Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* 210: 203-205, 1980
- 63 Holick MF, Reichrath J. Clinical utility of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and its analogs for the treatment of psoriasis. In: Holick MF, ed. *Vitamin D. Physiology, Molecular Biologic and Clinical Aspects*. Totowa, New York: The Human Press Inc.: 357-373, 1999
- 64 Holick CN, Stanford JL, Kwon EM, Ostrander EA, Nejentsev S and Peters U: Comprehensive Association Analysis of the Vitamin D Pathway Gens, VDR, CYP27B1,

- Vit D receptor gene polymorphisms and risk of breast cancer. *Carcinogenesis* 20: 2131-2135, 1999
- 41 Durrin LK, Haile RW, Ingles SA, Coetzee GA: Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. *Biochim. Biophys. Acta* 1453, 311-320, 1999
 - 42 English DR, Armstrong BK, Kricger A, Fleming C. Sunlight and Cancer. *Cancer Causes Control* 8: 271-283, 1997
 - 43 Evans SR, Houghton AM, Schumaker L: Vitamin D receptor and growth inhibition by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in human malignant melanoma cell lines. *J Surg* 61: 127-133, 1996
 - 44 Fang Y, van Meurs JB, d'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, Hofman A, van Leeuwen JP, Jehan F, Pols HA, Uitterlinden AG: Promoter und 3'-untranslated region haplotypes in the vitamin D receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the Rotterdam study. *Am J Hum Gent* 77: 807-823, 2005
 - 45 Faraco JM, Morrison NA, Baker A, Shin J and Frossard PM: Apa1 dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleid Acids Res* 117: 2150, 1989
 - 46 Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun reaction skin types I through VI. *Arch. Dermatol.*, 124: 869-871, 1988
 - 47 Furuya Y, Akakura K, Masai M and Ito H: Vit D receptor gene polymorphism in Japanese patients with prostate cancer. *Endocr J* 46: 567-570, 1999
 - 48 Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, Melchi CF. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: Sun exposure. *Eur J Cancer* 41: 45-60, 2005
 - 49 Gandini S, Raimondi S, Gnagnarella P, Doré JF, Maisonneuve P, Testori A. Vitamin D and skin cancer: A meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2008.
 - 50 Garbe C. In Seeber, S., Schütte, J. Basalzellkarzinom. In *Therapiekonzepte Onkologie*. Springer Verlag, Heidelberg, 3. Auflage, 790-797, 1998:
 - 51 Gniadecki R. Stimulation versus inhibition of keratinocyte growth by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃: dependence on cell culture conditions. *J Invest Dermatol* 106(3): 510-516, 1996
 - 52 Goldberg P, Fleming MC, Picard EH. Multiple sclerosis: decreased relapse rate through dietary supplementation with calcium, magnesium and vitamin D. *Medical hypotheses* 21: 193-200, 1986

- 29 Chaimuangraj S, Thammachoti R, Ongphiphadhanakul B and Thammavit W: Lack of association of VDR-Polymorphisms with Thai prostate cancer as compared with benign prostate hyperplasia and controls. *Asian Pac J Cancer Prev* 7: 136-139, 2006
- 30 Cicek MS, Liu X, Schumacher FR, Casey G and Witte JS: Vitamin D receptor genotypes/haplotypes and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15: 2549-2552, 2006
- 31 Clendenen TV, Arslan AA, Koenig KL, Enquist K, Wirgin I, Agren A, Lukanova A, Sjodin H, Zeleniuch-Jacqotte A, Shore RE, Hallmans G, Toniolo P and Lundin E: Vitamin D receptor polymorphisms and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett* 260: 209-215, 2008
- 32 Colston KW, Hansen CM. Mechanisms implicated in the growth regulatory effects of vitamin D in breast cancer. *Endocr relat Cancer* 9: 45-59, 2002
- 33 Cornwell ML, Comstock GW, Holick MF, Bush TL: Prediagnostic serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and malignant melanoma. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 9: 109-112, 1992
- 34 Costa EM, Feldman D. Measurement of 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 receptor turnover by dense amino acid labeling: changes during receptor up-regulation by vitamin D metabolites. *Endocrinology* 120: 1173-1178, 1987
- 35 Correa-Cerro L, Berthon P, Häussler J, Bochum S, Drelon E, Mangin P, Fournier G, Paiss T, Cussenot O and Vogel W: Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancers. *Hum Genet* 105: 281-287, 1999
- 36 Curran JE, Vaughan T, Lea RA, Weinstein SR, Morrison NA and Griffiths LR: Association of a vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. *Int J Cancer* 83: 723-726, 1999
- 37 Danielsson C, Fehsel k, Polly P, Carlberg C. Differential apoptotic response of human melanoma cells to 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and its analogues. *Cell Death Differ* 5: 946-952, 1998
- 38 De Gruijl FR: Skin cancer and solar UV radiation. *Eur J Cancer* 35(14): 2003-2009, 1999
- 39 Deep KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D is signalling pathways in cancer: potential anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 7: 684-700, 2007
- 40 Dunning AM, McBride S, Gregory J, Durocher F, Foster NA, Healey CS, Smith N, Pharoah PD, Luben RN, Easton DF and Ponder BA: No association between androgen or

- 16 Bollag WB, Ducote J, Harmon CS. Biphasic effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on primary mouse epidermal keratinocyte proliferation. *J Cell Physiol* 163:248-256; 1995
- 17 Boniol M, Armstrong BK, Dore JF. Variation in incidence and fatality of melanoma by season of diagnosis in New South Wales, Australia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15: 524-526, 2006
- 18 Boscoe FP, Schymura MJ. Solar ultraviolet-B exposure and cancer incidence and mortality in the United States, 1993- 2002. *BMC Cancer* 6:264, 2006
- 19 Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M. (2005) *Dermatologie und Venerologie, 5. Auflage. Springer Medizin Verlag Heidelberg*
- 20 Breuninger H, Schaumburg-Lever G, Holzschuh J, Horny HP: Desmoplastic squamous cell carcinoma of skin and vermilion surface: a highly malignant subtype of skin cancer. *Cancer* 1,79 (5): 915-919, 1997
- 21 Breuninger H, Sebastian G, Kortmann RD, Schwipper V, Werner J, Garbe C (2005) Deutsche Leitlinie: Basalzellkarzinom. In: Garbe C (Hrsg.) *Interdisziplinäre Leitlinien zur Diagnostik und Behandlung von Hauttumoren. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York S. 1 – 11*
- 22 Breuninger H, Sebastian G, Kortmann RD, Wolff KD, Bootz F, Garbe C (2005) Deutsche Leitlinie: Plattenepithelkarzinom der Haut, der Lippen und der Augenlider. In: Garbe C (Hrsg.) *Interdisziplinäre Leitlinien zur Diagnostik und Behandlung von Hauttumoren. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York S. 12 – 22*
- 23 Broders AC: Squamous cell epithelioma of the lip. A study of five hundred and thirty seven cases. *J Amer Med Soc*74: 656-664, 1920
- 24 Broders AC: Squamous cell epithelioma of the skin. *Ann Surg* 73: 114-160; 1921
- 25 Buyru N, Tezol A, Yosunkaya-Fenerci E and Dalay N: Vitamin D receptor gene polymorphisms in breast cancer risk. *Exp Mol Med* 35: 550-555, 2003
- 26 Carless MA, Kraska N, Lintell RE, Neale AC, Griffiths LR. Polymorphisms of the VDR gene are associated with presence of solar keratoses on the skin. *British Journal of Dermatology* 159: 804-810, 2008
- 27 Carling T, Rastad J, Akerstrom G, Westin G. Vitamin D rezeptor (VDR) and parathyroid hormone messenger ribonucleic acid levels correspond to polymorphic VDR alleles in human parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2255.2259, 1998.
- 28 Catorna MT. Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence? *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 223 (3): 230-233, 2000

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abbas S, Nieters A, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D and Chang-Claude J: Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes and postmenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res* 10: R31, 2008
- 3 Adorini L. Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* 2(7):1017-28, 2002
- 4 Altmeyer P, Dirschka T, Hartwig R. *Klinikleitfaden Dermatologie*, Urban & Fischer Verlag, München Jena, 2. Auflage, 379-382, 2003
- 5 Andersson P, Varenhorst E and Söderkvist P: Androgen receptor and vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. *Eur J Cancer* 42: 2833-2837, 2006
- 6 Bale AE, Yu KP. The hedgehog pathway and basal cell carcinomas. *Hum Mol genet* 10: 757-762, 2001
- 7 Baker AR, McDonnell DP, Hughes M, Crisp TM, Mangelsdorf DJ, Haussler MR, Pike JW, Shine J, O'Malley BW: Cloning the expression of full length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 3294-3298, 1988
- 8 Banerjee P, Chatterjee M. Antiproliferative role of vitamin D and its analogs-a brief overview. *Mol Cell Biochem* 253: 247-254, 2002
- 9 Berwick M, Armstrong BK, Ben-Porat L, Fine J, Kricker A, Eberle C, Barnhill R. Sun exposure and mortality from melanoma. *J Natl Cancer Inst* 97: 195-199, 2005
- 10 Bikle DD, Nemanic MK, Gee E, Elias P. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ production by human keratinocytes. *J Clin Invest* 78: 557-566, 1986
- 11 Bikle DD, Pillai S, Gee E. Squamous carcinoma cell lines produce 1,25-dihydroxyvitamin D, but fail to respond to its prodifferentiating effect. *J Invest Dermatol* 97: 435-441, 1991
- 12 Bikle DD, Xie Z, Ng D, Tu CL, Oda Y Squamous cell carcinomas fail to respond to the prodifferentiating actions of 1,25(OH)₂D: why? *Recent Results Cancer res* 164: 111-122, 2003
- 13 Bikle DD. Vitamin D and Skin Cancer. *J. Nutr.* 134: 3472-3478, 2004
- 14 Blazer DG 3rd, Umbach DM, Bostick RM and Taylor JA: Vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer. *Mol Carcinogen* 27: 18-23, 2000
- 15 Bodiwala D, Luscombe CJ, French ME, Liu S, Saxby MF, Jones PW, Fryer AA and Strange RC: Polymorphisms in the Vitamin D receptor gene, ultraviolet radiation, and susceptibility to prostate cancer. *Environ Mol Mutagen* 43: 121-127, 2004

43) und Plattenepithelkarzinomen (Apa1: $p= 0,702$; Taq1: $p= 1,000$; Bgl1: $p= 0,835$) (siehe Tabellen 44-46). Eine Assoziation zwischen VDR-Polymorphismen und dem Alter beim Auftreten von epithelialen Hauttumoren konnte demnach in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden. In einer Studie von Li et al., 2006 zeigte sich ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem VDR-Taq1-Polymorphismus und dem Alter bei Auftreten von Malignen Melanomen.

diese Faktoren in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurden und demnach nicht weiter darauf eingegangen werden konnte.

Die Häufigkeiten der untersuchten VDR-Polymorphismen in Basalzellkarzinomen unterschieden sich nicht signifikant in den beiden Geschlechtern (Apa1: $p=0,245$; Taq1: $p=0,180$; Bgl1: $p=0,261$) (siehe Tabellen 34-36). Auch in Plattenepithelkarzinomen konnte bei Männern und Frauen kein statistisch signifikanter Unterschied in der Verteilung der Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen festgestellt werden (Apa1: $0,182$; Taq1: $p=0,177$; Bgl1: $p=0,268$). Schlussfolgernd scheinen ein geschlechtsgebundenes Auftreten der untersuchten VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 sowie ein Zusammenhang von VDR-Polymorphismen und einer Geschlechtsbevorzugung bei epithelialen Hauttumoren unwahrscheinlich.

In der Studie Li et al., 2006, in der 602 Patienten mit Malignem Melanom kaukasischer Abstammung untersucht wurden, konnten keine Interaktionen zwischen dem Taq1-Polymorphismus und dem Geschlecht als Risikofaktor gefunden werden. Obwohl diese Studie Patienten mit Malignem Melanom untersuchte und deren Ergebnisse daher nur fraglich auf Patienten mit epithelialen Hauttumoren anwendbar sind, bestätigt die fehlende Assoziation zwischen dem Taq1-Polymorphismus und dem Geschlecht.

5.7. Interaktionen zwischen Alter und VDR-Polymorphismen und dem Alter als Risikofaktor für die Entstehung von epithelialen Hauttumoren

In der vorliegenden Arbeit wurde ein möglicher Einfluss der VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 auf das Manifestationsalter von epithelialen Hauttumoren untersucht. Dabei wurden alle untersuchten Patienten in 2 Altersgruppen unterteilt ($<$ und \geq 60 Jahren) (siehe Tabellen 41-46). Diese Unterteilung orientierte sich an einer Studie von Han et al., 2006, deren Patientenkollektiv 300 Basalzellkarzinompatienten und 286 Plattenepithelkarzinompatienten umfasste und das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung für das Basalzellkarzinom 60 Jahre und für das Plattenepithelkarzinom 64,7 Jahre betrug. In den onkologischen Leitlinien wird das Durchschnittsalter bei Auftreten von Basalzellkarzinomen ebenfalls mit 60 Jahren angegeben (Breuninger et al., 2005), das Alter bei Auftreten von Plattenepithelkarzinomen mit 70 Jahren (Breuninger et al., 2005). In der vorliegenden Dissertation zeigte keiner der untersuchten VDR-Polymorphismen einen statistisch signifikanter Einfluss auf das Manifestationsalter bei Basalzellkarzinomen (Apa1: $p=0,902$; Taq1: $p=1,000$; Bgl1: $p=1,000$) (siehe Tabellen 41-

sonnenexponierter Haut versus nicht chronisch sonnenexponierter Haut festgestellt werden. Andere Studien, die ebenfalls die Risikofaktoren VDR-Polymorphismen und Sonnenexposition auf das Krebsrisiko untersuchten, wie beispielsweise eine aktuelle Brustkrebs-Studie (John et al., 2007), in der der Einfluss von Sonnenexposition und VDR-Polymorphismen auf Brustkrebs untersucht wurde, fand man ein reduziertes Brustkrebsrisiko bei Frauen mit heller Haut und einer erhöhten Sonnenexposition (OR= 0,53; 95% KI: 0,31;0,91), wobei dieses unabhängig von den VDR-Polymorphismen Taq1 und Bgl1 bestand. Abschließend, erscheint eine fehlende Korrelation zwischen den untersuchten VDR-Polymorphismen und der Lokalisation von epithelialen Hauttumoren wahrscheinlich, wobei umfangreichere Studien nötig sind um diese Schlussfolgerung zu bestätigen.

5.6. Interaktionen zwischen Geschlecht und VDR-Polymorphismen als Risikofaktor für die Entstehung von epithelialen Hauttumoren

Ein weiteres Anliegen der vorliegenden Studie bestand in der Untersuchung eines möglichen Einflusses von VDR-Polymorphismen auf das Auftreten von epithelialen Hauttumoren bei männlichen versus weiblichen Patienten. Es sollte geprüft werden ob VDR-Polymorphismen einen Risikofaktor für eine Geschlechtsbevorzugung bei dem Auftreten epithelialer Tumoren darstellen. Sowohl Basalzellkarzinome (OR: 4,663; p= 0,000; 95%-KI: [2,035; 10,685]) als auch Plattenepithelkarzinome (OR= 4,429; p= 0,000; 95%-KI: [1,931; 10,155]) traten in der vorliegenden Dissertation ca. 4,5 x häufiger bei Männern auf. Somit stellt das Geschlecht in der vorliegenden Studie einen statistisch signifikanten Risikofaktor für das Entstehen von epithelialen Hauttumoren dar. In den Onkologischen Kurzeitlinien für Plattenepithelkarzinome (Breuniger et al., 2005) ist eine Geschlechtsbevorzugung des männlichen Geschlechts für Plattenepithelkarzinome beschrieben. Das > 4x häufigere Auftreten von Basalzellkarzinomen bei Männern in der vorliegenden Untersuchung steht jedoch im Widerspruch zu den Angaben der onkologischen Leitlinien für Basalzellkarzinome (Breuniger et al., 2005), in denen das Auftreten von Basalzellkarzinomen bei dem männlichen und weiblichen Geschlecht als gleich häufig angegeben wird. Mögliche Ursachen für das deutlich gehäufte Auftreten von Basalzellkarzinomen bei Männern könnte technische Ursachen haben, da von allen isolierten DNA Proben aus Basalzellkarzinomgewebe nur diejenigen in die Studie eingegangen sind, deren Sequenzierung eindeutig erfolgen konnte. Auch andere Faktoren, wie beispielsweise akkumulierte UV-Strahlung durch Berufe im Freien, genetische Disposition mit geringer Hautpigmentierung oder Ernährungsfaktoren könnten als Ursache in Frage kommen, wobei

und dadurch das Risiko für epitheliale Hauttumoren heraufsetzen. Diese Vermutung wird jedoch zum Teil durch das gehäufte Auftreten eines weiteren Genotyps (Genotyp aaTTBB) widerlegt, der ebenfalls die Allele Apa1 a und Taq1 t enthielt, jedoch fast ausschließlich in der Kontrollgruppe vertreten war (20%) und fast vollständig in den Tumorgruppen fehlte (BCC: 0%, PECA 4%). Ein ebenfalls häufig vorkommender Genotyp (AAttBB: Apa1 AA, Taq1 tt, Bgl1 BB; 14,1%) wies keine Unterschiede in der Verteilung zwischen den Tumorgruppen (BCC: 13,7%; PECA: 14,7%) und der Kontrollgruppe (14,0%) auf was auf eine fehlende Assoziation zwischen diesem Genotyp und epithelialen Hauttumoren hindeutet. Seine hohe Auftretenshäufigkeit in den untersuchten Gruppen lässt sich dabei durch das bestehende LD zwischen dem VDR Taq1 t-Allels und dem VDR Apa1 A-Allels erklären.

5.5. Einfluss von VDR-Polymorphismen auf die Lokalisation von epithelialen Hauttumoren

Eine weitere Fragestellung der vorliegenden Dissertation lag darin zu prüfen ob VDR-Polymorphismen einen Einfluss auf die Lokalisation von epithelialen Hauttumoren ausüben. Dazu wurden VDR-Polymorphismen bei Individuen mit epithelialen Tumoren auf chronisch sonnenexponierter versus chronisch nicht sonnenexponierter Haut untersucht. Basalzellkarzinome traten auf chronisch sonnenexponierter Haut im Vergleich zu nicht chronisch sonnenexponierter Haut > 5x häufiger auf (BCC: Apa1: 84,7% vs. 15,3%; Taq1: 85,3% vs. 14,7%, Bgl1 85,5 vs. 14,5%) (siehe Tabellen 28-30), Plattenepithelkarzinome sogar >13x häufiger (PECA: Apa1: 93,1% vs. 6,9%, Taq1: 92,3% vs. 7,7%, Bgl1: 92,2 vs. 7,7%). Dies deutet auf einen starken Einfluss von UV-Strahlung auf die Karzinogenese von epithelialen Hauttumoren hin, wobei UV-Strahlung bereits vielfach als gesicherter Risikofaktor sowohl für Plattenepithelkarzinome als auch für Basalzellkarzinome beschrieben wurde (English et al., 1997, Ravanat et al., 2001). In den Onkologischen Kurzeitlinien für Plattenepithelkarzinome (Breuninger et al., 2005) wird das Vorkommen von Plattenepithelkarzinomen zu 90% im Gesicht, einem chronisch sonnenexponierten Areal, angegeben. Basalzellkarzinome treten laut den onkologischen Leitlinien für Basalzellkarzinome (Breuninger et al., 2005) zu 80% im Kopf-Hals-Bereich auf. Hinsichtlich einer Assoziation mit VDR-Polymorphismen konnten in der vorliegenden Studie weder bei Basalzellkarzinomen noch bei Plattenepithelkarzinomen statistisch signifikante Unterschiede in der Verteilung der VDR-Polymorphismen Apa1 (BCC: $p=0,431$; PECA: $p=1,000$), Taq1 (BCC: $p=0,730$; PECA: $p=1,000$) und Bgl1 (BCC: $p=0,415$, PECA: $p=0,356$) in chronisch

entwickeln nicht mit dem VDR Bgl1-Polymorphismus assoziiert war. Dennoch wären aufgrund der relativ geringen Fallzahlen (PECA: 82, Kontrolle 51) dieser Studie weitere Untersuchungen nötig um diese Aussage zu bekräftigen.

5.4. VDR-Genotypen bei epithelialen Hauttumoren

Durch die Betrachtung der Häufigkeiten zusammengesetzter Genotypen sollte untersucht werden ob die vorher einzeln betrachteten Polymorphismen zu einer Risikoerhöhung von epithelialen Hauttumoren führten wenn sie gemeinsam in einer bestimmten Konstellation auftraten. Die in Tabelle 27 dargestellten Genotypen setzten sich jeweils aus zwei Haplotypen zusammen, die einzeln nicht dargestellt wurden und deren prozentualen Häufigkeiten nicht errechnet wurden. Das gehäufte Auftreten bestimmter Genotypkombinationen lässt sich durch ein, zwischen den Einzelnukleotidpolymorphismen Bsm1, Apa1 und Taq1 bestehendes starkes Linkage Disequilibrium erklären (Morisson et al., 1992; Morisson et al., 1994; Ingles et al, 1997; Durrin et al, 1999) erklären. Uitterlinden et al., 1996 beschrieb die Haplotypen1 (baT 48%) und Haplotyp 2 (BAt 40%) als die am häufigsten vorkommenden Haplotypen in der kaukasischen Bevölkerung. Dabei bezog er sich auf die VDR-Polymorphismen Apa1 (Allele a und A), Taq1 (Allele T und t) und Bsm1 (Allele B und b). Der VDR-Polymorphismus Bsm1 wurde in der vorliegenden Dissertation nicht analysiert. Zu dem, in der vorliegenden Studie analysierten VDR Bgl1-Polymorphismus, der wie der VDR Bsm1-Polymorphismus durch die Allele b und B gekennzeichnet ist, sind keine Angaben zu den Häufigkeiten in der Bevölkerung bekannt. Diese Haplotypen sind jeweils in mehreren, der in Tabelle 27 aufgelisteten Genotypen enthalten wobei nur jeweils die Apa1-Allele a/A und Taq1-Allele T/t für den Vergleich mit den, von Uitterlinden beschriebenen Haplotypen relevant sind und aufgeführt werden (Haplotyp 1 (aT):aaTTbb, aaTTBB, AaTtbb, AaTtBb, AaTtBB, AaTTBb; Haplotyp 2 (At): AaTtbb, AaTtBb, AaTtBB, AAttbb, AAttBB, AATtBB) Der Genotyp AaTtBb (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) kam sowohl in den Tumorgruppen als auch in der Kontrollgruppe am häufigsten (BCC: 45,2%, PECA 38,7%, Kontrollgruppe:38%) vor, was allgemein darauf hindeutet, dass heterozygoten Genotypen mit großer Häufigkeit in der Bevölkerung vorhanden sind. Zudem enthält er beide Haplotypen 1 (aT) und 2 (at), was sein häufiges Auftreten in der Bevölkerung erklären könnte. Die Häufigkeiten des Genotyps aaTTbb (Apa1 aa, Taq1 TT, Bgl1 bb; 16,7%) unterschieden sich erheblich zwischen den Tumorgruppen (BCC: 20,5%; PECA 18,7%) und der Kontrollgruppe (8%). Dies könnte darauf hindeuten, dass sich die Allele Apa1 a, Taq1 T und Bgl1 b gegenseitig beeinflussen

(BCC: BB+bb: 45,5%, Bb: 54,5%; Kontrolle: BB+bb:56,9%, Bb: 43,1%) (siehe Tabelle 17). Obwohl diese deutliche Tendenz keine statistische Signifikanz ($p= 0,279$) (Tabelle nicht dargestellt) erreichte, könnte man vermuten dass homozygote VDR Bgl1-Genotypen mit einem erhöhtem Basalzellkarzinomrisiko einhergehen. In der Untersuchung der der Genotypen, die das Bgl1-Allel b enthalten (VDR-Bgl1-Genotyps (bb+ Bb): BCC: 74%; Kontrollgruppe: 70,6%) (siehe Tabelle 23). zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied in den Häufigkeiten dieser Genotypen in Basalzellkarzinomen und gesunden Kontrollen ($p= 0, 690$) (Tabelle nicht dargestellt). Zu diesen Ergebnissen liegen derzeit keine Vergleichsstudien vor, die eine bessere Beurteilung ihrer Aussagekraft ermöglichen würden.

5.3.3.3. Der VDR Bgl1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen

In der vorliegenden Dissertation wurde erstmals das Auftreten des VDR Bgl1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe untersucht. In der Plattenepithelkarzinomgruppe machte der heterozygote Genotyp Bb die Hälfte aller Genotypen aus (50%) wobei die beiden homozygoten Genotypen in gleicher Häufigkeit vorkamen (bb: 26,8%, BB: 23,2%) (siehe Tabelle 8). Sowohl die Häufigkeiten aller untersuchten VDR Bgl1-Genotypen (BCC: bb: 26,8%, Bb: 50%, BB: 23,2%; Kontrollgruppe: bb: 27,5%, Bb: 43,1%, BB: 29,4%; $p= 0,662$) als auch die der Bgl1-Allele (PECA: b: 51,8%, B: 48,2%; Kontrolle: b: 49,0%, B: 51%; $p= 0,706$) (siehe Tabelle 14) unterschieden sich nicht signifikant von der der Kontrollgruppe ($p= 0,662$). Somit konnte in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang zwischen dem VDR Bgl1-Polymorphismus und dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden. Der heterozygote Genotyp Bgl1 Bb (50%) und der zusammengesetzte Genotyp Bgl1 bb+BB (50%) waren in der Plattenepithelkarzinomgruppe gleich häufig vorhanden (siehe Tabelle 20). In der Kontrollgruppe kam der zusammengesetzte Genotyp Bgl1 bb+BB (56,9%) häufiger vor, wobei keine statistische Signifikanz erreicht wurde ($p=0,479$). Auch die Betrachtung der zusammengefassten Genotypen mit dem Bgl1-Polymorphismus (bb+Bb) zeigte, trotz tendenziell gehäuften Vorkommens dieses Genotyps in der PECA-Gruppe (76,8 % vs. 70,6%) (siehe Tabelle 26) keine statistische Signifikanz ($p= 0, 540$) (Tabelle nicht dargestellt). Im Gegensatz zu der Tendenz der homozygoten Bgl1-Genotypen gehäuft in Basalzellkarzinomen vorzukommen, zeigte sich diese Tendenz nicht in Plattenepithelkarzinomen. Infolgedessen bestätigte sich auch bei Betrachtung der zusammengefassten Bgl1-Genotypen nach den Kriterien homozygot versus heterozygot und das b- Allel enthaltend versus nicht enthaltend, dass das Risiko Plattenepithelkarzinome zu

2007 nur weibliche Individuen untersucht wurden und die vorliegende Arbeit nur über eine relativ geringe Fallzahl (n=51) verfügte.

5.3.3.2. Der VDR Bgl1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen

In der vorliegenden Dissertation wurden VDR Bgl1-Genotypen bei Patienten mit Basalzellkarzinomen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe unter dem Aspekt einer möglichen Assoziation mit dem Auftreten von Basalzellkarzinomen untersucht.

Der heterozygote Genotyp Bb war in der Basalzellkarzinomgruppe (54,5%) um > 10% häufiger vertreten als in der Kontrollgruppe (43,1%) (siehe Tabelle 8). John et al., 2007 berichtet von einem Prozentsatz von 41,1% des heterozygoten Bgl1 Bb-Genotyps unter den hellhäutigen Frauen mit fortgeschrittenen Brustkrebs (n=68) womit in jener Studie kein Unterschied in den Häufigkeiten dieses Genotyps im Vergleich zur Kontrollgruppe (48,3%) bestand. Ein möglicher Zusammenhang diesen Genotyps mit einem erhöhten Basalzellkarzinomrisiko ist dennoch nicht auszuschließen, da es sich in der erwähnten Studie (John et al., 2007) um eine Analyse von VDR-Polymorphismen bei Brustkrebspatientinnen handelte und der Einfluss von VDR-Polymorphismen auf maligne Erkrankungen tumorspezifisch sind. Der homozygote Genotyp Bgl1 bb war in der Basalzellkarzinomgruppe prozentual (19,5%) deutlich seltener vertreten wobei bei Betrachtung der absoluten Fallzahlen auffällt dass dieser Unterschied nur gering war (BCC: 15; Kontrollen: 14) (siehe Tabelle 8). In der Studie von John et al., 2007 kam der homozygote Genotyp bei Frauen mit fortgeschrittenem Brustkrebs (20,5%) und in der Kontrollgruppe (22,9%) gleich häufig vor. Schlussfolgernd deutet dies sowohl bei Basalzellkarzinomen als auch bei Brustkrebs auf eine fehlende Assoziation des Bgl1-Genotyps zu einem alterierten Krebsrisiko besteht. Der Anteil der homozygoten BB lag in der Basalzellkarzinomgruppe bei 26%, in der Kontrollgruppe bei 29,4% (siehe Tabelle 8). Generell unterschied sich die Verteilung der Genotypen in der Basalzellkarzinomgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant voneinander (p= 0,418) (Tabelle nicht dargestellt). Auch die Verteilung der beiden Bgl1-Allele B und b zeigte keine statistische Differenz in der Basalzellkarzinomgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (p= 0,798) (BCC: b: 46,8%, B: 53,2% Kontrolle: b: 49%, B: 51%) (siehe Tabelle 11). Beim Betrachten des heterozygoten Genotyp Bgl1 Bb im Vergleich zu den beiden zusammengefassten homozygoten Bgl1-Genotypen BB+bb fiel auf, dass der Bb-Genotyp deutlich häufiger in der Basalzellkarzinomgruppe vertreten war, während der zusammengesetzte Bgl1-Genotypen BB+bb in der Kontrollgruppe stärker vertreten war

Bgl1 BB-Genotyp (OR= 0,37; 95% KI [0.18-0.76]). Bei Frauen anderen Hauttyps zeigte der VDR Bgl1-Polymorphismus keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Brustkrebsrisiko. In dieser Studie zeigte der Hauttyp, wenn isoliert betrachtet, eine Risikoreduktion von 54% (OR= 0,46; 95% KI [0.26-0,79]). Diese Risikoreduktion wurde nur unwesentlich durch den Bgl1-Polymorphismus beeinflusst (Bb/bb-Genotyp: OR= 0,46; 95% KI [0.20-0,85]; BB-Genotyp: OR= 0,45; 95% KI [0.18-1,13])

5.3.3. Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Bgl1-Polymorphismus

5.3.3.1. Der VDR-Bgl1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen

Die Untersuchung der Häufigkeiten von VDR Bgl1-Genotypen in der Kontrollgruppe erfolgte zur Feststellung, ob die Kontrollgruppe bezüglich dieses Polymorphismus als repräsentativ für die kaukasische Bevölkerung angesehen werden kann. In der Kontrollgruppe der vorliegenden Dissertation war in der heterozygote VDR Bgl1-Polymorphismus (Bb-Genotyp) am häufigsten vertreten (43,1%), während die beiden homozygoten Genotypen (bb-Genotyp: 27,5%; BB-Genotyp: 29,4%) in gleicher Häufigkeit auftraten (siehe Tabelle 5). Eine Aussage zur Häufigkeit des Bgl1-Polymorphismus in der kaukasischen Bevölkerung ist nach derzeitiger Datenlage nicht möglich. In der Brustkrebs-Studie von John et al., 2007, die als einzige Referenzstudie zu dem Bgl1-Polymorphismus aufgeführt werden kann, hatten innerhalb der hellhäutigen Kontrollgruppe (296 Frauen) 22,9% der Frauen den bb-Genotyp, 48,3% der Frauen den Bb-Genotyp und 28,7% der Frauen den BB-Genotyp. Da in dieser Studie nur Individuen des weiblichen Geschlechts untersucht wurden, die sowohl afroamerikanischen, lateinamerikanischen und kaukasischer Abstammung waren, dienen die oben genannten Werte nur zur groben Orientierung der Häufigkeiten von Bgl1-Genotypen in einer größeren Bevölkerungsgruppe. Aufgrund der Tatsache, dass der heterozygote Genotyp Bgl1 Bb sowohl in der vorliegenden Dissertation (Bb-Genotyp: 43,1%) als auch in der Studie von John et al., 2007 (Bb-Genotyp: 48,3%) ähnliche prozentuale Häufigkeiten aufwiesen ist ein allgemein häufiges Vorkommen in der Bevölkerung wahrscheinlich. Die Häufigkeiten der des homozygoten Bgl1 bb-Genotyps (27,5%) in der vorliegenden Arbeit stimmten ebenfalls mit den Häufigkeiten dieses Genotyps in der Studie von John et al., 2007 (22,9%) überein. Die Kontrollgruppe kann somit als vertretend für eine größere Bevölkerungsgruppe angesehen werden, wobei einschränkend zu erwähnen ist, dass in der Studie von John et al.,

Fitzpatrick (Fitzpatrick et al., 1988)). Die zu untersuchende DNA wurde direkt aus Plattenepithelkarzinomgewebe, welches in Paraffin eingebettet war, isoliert. Der dadurch erzielte Vorteil, direkt aus Tumorgewebe stammende DNA zu untersuchen, ging jedoch mit einem Qualitätsverlust der DNA einher. Dies war bedingt durch die bis zu 3-jährige Lagerung in Paraffin und führte zu einer erschwerten Sequenzierung. Es wurden insgesamt Sequenzierungen von 8 Plattenepithelkarzinomgewebeproben wiederholt, wobei die Wiederholerproben den Taq1-Polymorphismus nicht enthielten.

Abschließend zeigt sich in der vorliegenden Dissertation eine jedoch nicht statistisch signifikante Assoziation des Taq1 t-Allels mit einem erhöhten Plattenepithelkarzinomrisiko. Derzeit liegen erst wenige Studien vor, die eine mögliche Assoziation des VDR Taq1-Polymorphismus bekräftigen oder widerlegen könnten wobei aktuelle Ergebnisse widersprüchlich sind. Aufgrund der niedrigen Fallkontrollzahl und anderen Faktoren, die die Aussagekraft der vorliegenden Arbeit einschränken, sind weitere, umfassendere Studien nötig um Zusammenhänge klar hervorzuarbeiten.

5.3. Der VDR-Bgl1-Polymorphismus

5.3.1. Struktur und Funktionalität des VDR-Bgl1-Polymorphismus

Der VDR Bgl1-Polymorphismus gehört zu den Einzelnukleotidpolymorphismen auf dem Exon 9 (rs 739837) und liegt 303 Basenpaare von dem Stop Codon entfernt. Er führt zu keiner Änderung in der Aminosäuresequenz des VDR-Proteins, wodurch seine funktionelle Bedeutung derzeit noch unklar ist. Man vermutet Interaktionen mit anderen in der Nähe lokalisierten funktionellen VDR-Sequenzen und dadurch einen möglichen Einfluss auf die Transkription, Translation oder RNA Prozessierung des VDR-Gens (Durrin et al., 1999; Whitfield et al., 2001)

5.3.2. VDR Bgl1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen

Nach aktueller Datenlage wurde der VDR Bgl1-Polymorphismus hinsichtlich Krebserkrankungen erst in einer Studie (John et al., 2007) untersucht. In dieser multiethnischen Studie, die 287 lateinamerikanische Frauen, 250 afroamerikanische Frauen und 277 hellhäutige Frauen auf Risikofaktoren für Brustkrebs untersuchte, fand sich signifikant erniedrigtes Brustkrebsrisiko bei Frauen mit mittlerem Hautpigmentation und dem

dem Ziel eine mögliche Assoziation des Taq1-Polymorphismus mit dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen nachzuweisen. Die Verteilung der Taq1-Genotypen innerhalb der Plattenepithelkarzinomgruppe (Taq1 TT: 34,1%, Tt: 43,9%; tt: 22%) zeigte keine statistisch signifikante Korrelation zu dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen (Kontrollgruppe: TT: 38%, Tt: 48%, tt: 14%) (siehe Tabelle 7). Trotz fehlender statistischer Signifikanz könnte das gehäufte Auftreten des homozygoten Taq1 tt-Genotyps (22% vs. 14%) sowie das gehäufte Auftreten des t-Allels in der Plattenepithelkarzinomgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (43,9% vs. 38%) (siehe Tabelle 13) auf ein erhöhtes Plattenepithelkarzinomrisiko bei Individuen mit einem oder zwei t-Allelen hindeuten.

Diese Annahme wird dabei von einer weiteren aktuellen Studie (Han et al., 2007) bekräftigt, in der ein Zusammenhang zwischen dem VDR Bsm1-BB-Genotyp und einem signifikant erhöhten Risiko für Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden konnte (OR: 1.51; KI [1.00; 2.28]). Durch das bestehende Linkage Disequilibrium zwischen dem VDR Taq1 t-Allel, dem Apa1 A-Allel und dem Bsm1 B-Allel (Haplotyp 2; BAt) (Uitterlinden et al., 1996) wäre demnach ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Taq1 t-Allel und dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen nicht auszuschließen. Im Widerspruch dazu wurde in einer, im September 2008 publizierte Meta-Analyse (Gandini et al., 2008), deren Gesamtkollektiv 1.437 Maligne Melanom Patienten und 536 Patienten mit epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) umfasste, ein Zusammenhang zwischen dem VDR-Polymorphismus Bsm1 B-Allel und einem signifikant reduzierten Risiko für das Maligne Melanom (BB-Genotyp: OR= 0,75; KI [0,59, 0,95]; p=0,09; Bb-Genotyp: OR= 0,78; KI [0,65, 0,92]; p=0,74) und einem nicht statistisch signifikant reduzierten Risiko für epitheliale Hauttumoren assoziiert (BB-Genotyp: OR= 0,87; KI [0,63, 1,21]; p=0,01; Bb-Genotyp: OR= 0,80; KI [0,60, 1,06]; p=0,53). Durch das starke Linkage Disequilibrium des VDR Bsm1 B-Allels mit dem VDR Taq1 t-Allel (Haplotyp 2: BAt, Bsm1 B, Apa1 A und Taq1 t) (Uitterlinden et al., 1996) deutet dieses Ergebnis auf eine mögliche Assoziation des Taq1 t-Allels mit einem reduzierten Risiko für epitheliale Hauttumoren und steht somit im Widerspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Dissertation und denen der Studie von Han et al., 2007. Mögliche Ursachen für das Fehlen eines statistisch signifikanten Zusammenhanges in der vorliegenden Dissertation könnte an den niedrigen Fall-Kontrollzahlen (82 Plattenepithelkarzinom-Patienten; 51 Kontrollen) der vorliegenden Studie liegen. Ein weiterer limitierender Faktor der vorliegenden Dissertation war die unzureichende Datenlage über mögliche Risikofaktoren, denen die Patienten ausgesetzt waren (kumulierte Sonnenexposition, schwere Sonnenbrände, positive Familienanamnese, Hauttyp nach

Bisher wurde keine weitere Studie publiziert, die den Einfluss des Taq1-Polymorphismus auf das Auftreten von Basalzellkarzinomen untersuchte. Das t-Allel wurde in der größten bisher publizierten Studie, die den Einfluss des Taq1-Polymorphismus auf die Karzinogenese des Malignen Melanoms analysierte ebenfalls als protektiver Faktor beschrieben (Li et al., 2008). Eine mögliche Erklärung dafür sah man in dem Einhergehen (in vitro Versuche) des BA_T Haplotyps (Bsm1 B; Apa1 A; Taq1 t), der das Taq1 t-Allel beinhaltet mit einer erhöhten Genaktivität (Morrison et al., 1994) und VDR-mRNA Expression (Carling et al., 1998) im Vergleich zum ba_T Haplotyp. Diese Korrelation zwischen dem t-Allel und einem reduziertem Melanomrisiko ($p < 0,01$) bestand unabhängig von anderen bekannten Risikofaktoren und anderen Genotypen. Ein weitere mögliche Erklärung für das karzinogene Potential des Taq1 T-Allels liegt in dem erniedrigten Vitamin D Spiegel, der in einer türkischen Studie bei Individuen mit dem TT-Genotyp nachgewiesen wurde ($p = 0,112$) (Yalim-Eraltan et al., 2007).

Abschließend konnte in der vorliegenden Dissertation kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem VDR Taq1-Polymorphismus und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen nachgewiesen werden, obwohl man tendenziell eine Risikoreduktion bei Individuen mit dem T-Allel annehmen könnte. Diese Annahme wird dabei durch den zahlreich in der Literatur für andere Malignome beschriebenen karzinogenen Charakter des T-Allels in Frage gestellt. Da ebenfalls viele Studien keine Assoziation zwischen dem Taq1-Polymorphismus nachweisen konnten (Brustkrebs: Dunning et al., 1999; Hou et al., 2002; Buyru et al., 2003; John et al., 2007; Sillanpää et al., 2004; Prostatakarzinom: Kibel et al., 1998; Ma et al., 1998; Blazer et al., 2000; Luscombe et al., 2001; Gsur et al., 2002; Watanabe et al., 1999; Furuya et al., 1999; Habuchi et al., 2000; Suzuki et al., 2003; Bodiwala et al., 2004; Huang et al., 2004; Maistro et al., 2004; Oakley-Girvan et al., 2004; Tayeb et al., 2003; Chaimuangraj et al., 2006; Andersson et al., 2006; Holick et al., 2007; Malignes Melanom: Hutchinson et al., 2000, Ovarialkarzinom: Clendenen et al., 2008; Nierenzellkarzinom: Obara et al., 2007) und bisher keine weiteren Studien zu dem Taq1-Polymorphismus und epithelialen Hauttumoren publiziert wurden, sind weitere Studien hinsichtlich dieser Fragestellung notwendig.

5.2.4.3. Der Taq1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen

Das Auftreten des VDR Taq1-Polymorphismus wurde in der vorliegenden Dissertation bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen und einer gesunden Kontrollgruppe verglichen mit

Die Taq1-Genotypen waren in der Kontrollgruppe folgendermaßen verteilt: TT: 38%, Tt 48% und tt 14%, tt+Tt: 62%. Die Allelfrequenz betrug für das VDR Taq1 t-Allel 38%, für das T-Allel 48%. In einer aktuell publizierten Studie (Li et al., 2008), die 841 gesunde weiße US-Amerikaner als Kontrollkollektiv umfasste, zeigte sich eine ähnliche Verteilung der Taq1-Genotypen (Taq1 TT: 32%, Tt: 50,2%, tt: 17,8%; tt+Tt: 68%). Die Häufigkeit des t-Allels in der Kontrollgruppe entsprach nahezu der t-Allel Häufigkeit (40,4%) in einer großen Studie (1,978 Kaukasier) von Ntais et al., 2003. Insgesamt lässt dieser Vergleich darauf schließen, dass die Kontrollgruppe in der vorliegenden Studie als repräsentativ für die kaukasische Bevölkerung angesehen werden kann.

5.2.4.2. Der Taq1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen

Die Untersuchung des Taq1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe erfolgte mit dem Ziel eine mögliche Korrelationen zwischen dem, in der Literatur häufig erwähnten Taq1-Polymorphismus und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen nachzuweisen. In der Basalzellkarzinomgruppe der vorliegenden Studie kam der VDR Taq1-Genotyp TT zu 27,6%, Tt zu 59,2% und tt zu 13,2% vor (Kontrollgruppe: TT: 38%, Tt: 48%, tt: 14%) (siehe Tabelle 7). Auffallend erscheint in der vorliegenden Dissertation das deutlich gehäufte Vorkommen des Taq1-TT-Genotyps in der Kontrollgruppe im Vergleich zur Basalzellkarzinomgruppe (38% vs. 27,6%), was auf einen protektiven Charakter dieses Genotyps rückschließen lässt. Trotz diesen deutlich bestehenden Trends unterschieden sich diese Genotyphäufigkeiten nicht signifikant von derjenigen in der Kontrollgruppe ($p=0,429$). Entgegen diesem Trend wird in der Literatur der Taq1 tt-Genotyp gehäuft mit einem erniedrigten Risiko unterschiedlicher Malignome in Verbindung gebracht. Tayler et al., 1996 berichtete über ein signifikant häufigeres Vorkommen des homozygoten tt-Genotyps unter den 157 gesunden Kontrollen im Vergleich zu den 94 Prostatakarzinompatienten kaukasischer Herkunft ($p < 0,01$) und Onsory et al., 2008 wies ein $> 50\%$ reduziertes Prostatakarzinomrisiko für den homozygoten tt-Genotyp nach (OR= 0,43; 95% KI: [0,13; 1,39]). In einer anderen Studie (Tayeb et al., 2004;) hatten Männer mit dem TT-Genotyp ein > 5 -fach (OR= 5,16) erhöhtes Risiko ein Prostatakarzinom zu entwickeln und in einer Nierenzellkarzinomstudie (Ikuyama et al., 2002) war das Risiko ein Nierenzellkarzinom zu entwickeln bei Individuen mit dem Taq1 TT-Genotyp 2,5 fach erhöht (OR= 2,45). Darüber hinaus wurde für das Kolonkarzinom über ein reduziertes Risiko bei Individuen mit dem homozygoten Taq1 tt-Genotyp berichtet (OR= 0,5) (Slattery et al., 2001).

5.2.3. VDR Taq1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen der Haut

Bisher wurde ein möglicher Einfluss des Taq1-Polymorphismus auf das Risiko und die Prognose von Hautkrebs erst in wenigen Studien untersucht. Eine britische Krankenhaus gekoppelte Fall-Kontrollstudie (Hutchinson et al., 2000), die 316 Melanompatienten kaukasischer Abstammung (Nordeuropa) untersuchte, konnte keinen Zusammenhang zwischen dem VDR Taq1-Polymorphismus und dem Malignem Melanom feststellen.

Dennoch korrelierte in dieser Studie der ttff-Genotyp, der sich aus den homozygoten Genotypen für den Taq1-Polymorphismus (tt-Genotyp) und eines weiteren, in dieser Studie untersuchten VDR-Polymorphismus (VDR Fok1-Polymorphismus; ff-Genotyp) mit vertikalen Tumordicken (Breslow Index) $\geq 3.5\text{mm}$ (OR=31.5; $p= 0.001$) und somit mit einer deutlich schlechteren Krankheitsprognose (Reintgen et al., 1992). Der Taq1 tt-Genotyp korrelierte ebenfalls mit Tumordicken $\geq 3,5$ mm jedoch war diese Korrelation nicht statistisch signifikant (OR= 2.84; $p= 0.105$). In dieser Studie betrug die durchschnittliche Tumordicke vom Malignen Melanom bei Patienten mit dem ttff-Genotyp 2,9 mm während sie bei Patienten mit allen anderen Genotypen 1,1 mm betrug. Schlussfolgernd stellte der VDR-Genotyp einen bedeutenderen Faktor für die Prognose des Malignen Melanoms dar als für dessen Inzidenz.

In einer aktuellen Krankenhaus korrelierten Fall-Kontroll Studie (Li et al., 2007), die 602 Patienten mit Malignem Melanom und 603 gesunde, nach Alter, Geschlecht und Bevölkerungsgruppe zugewiesenen Kontrollen aus der weißen US- Bevölkerung untersuchten, zeigte sich ein statistisch signifikant erniedrigtes Risiko der Personen mit dem VDR Taq1 Tt-Genotyp (OR= 0,70; 95% KI: 0.54-0.90) und dem zusammengesetzten VDR-Taq1 Tt+tt-Genotyp (OR= 0,70; 95% KI: 0.55-0.89) im Vergleich zu dem Taq1 TT-Genotyp. Die Taq1 t-Allel-Häufigkeit war signifikant niedriger in der Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (37,9% versus 43,0%; $p= 0,012$).

5.2.4. Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Taq1-Polymorphismus

5.2.4.1. Der VDR Taq1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen

In der Kontrollgruppe diente die Betrachtung der Häufigkeiten der VDR Taq1-Genotypen zur Überprüfung der Repräsentativität dieser Gruppe für die kaukasische Bevölkerung.

zwischen dem Taq1-Polymorphismus (T-Allel) und der L-Sequenz des VDR Poly A Polymorphismus (Ingles et al., 1997) sowie zwischen den drei VDR-Polymorphismen Taq1-Apa1-Bsm1 (Fang et al., 2005; Morisson et al., 2002; Morisson et al., 1994; Ingles et al., 1997; Durrin et al., 1999) mit dem Haplotyp1 (baT: 48%; Bsm1 b, Apa1 a , Taq1 T) und dem Haplotyp 2 (BAt: 40%; Bsm1 B, Apa1 A und Taq1 t) als am häufigsten auftretende Haplotypen in der kaukasischen Bevölkerung (Uitterlinden et al., 1996; Fang et al., 2005). Dieses LD könnte als mögliche Ursache einer gegenseitigen Beeinflussung der oben genannten Polymorphismen in Bezug auf verschiedene Erkrankungen angesehen werden.

5.2.2. VDR Taq1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen

Der VDR Taq1-Polymorphismus und sein möglicher Einfluss für das Auftreten verschiedener Tumoren wurden bereits in vielen Studien analysiert. In der Mehrzahl dieser Studien konnte kein Zusammenhang zwischen dem Taq1-Polymorphismus und maligner Zellentartung gefunden werden (Brustkrebs: Dunning et al., 1999; Hou et al., 2002; Buyru et al., 2003; John et al., 2007; Sillanpää et al., 2004; Prostatakarzinom: Kibel et al., 1998; Ma et al., 1998; Blazer et al., 2000; Luscombe et al., 2001; Gsur et al., 2002; Watanabe et al., 1999; Furuya et al., 1999; Habuchi et al., 2000; Suzuki et al., 2003; Bodiwala et al., 2004; Huang et al., 2004; Maistro et al., 2004; Oakley-Girvan et al., 2004; Tayeb et al., 2003; Chaimuangraj et al., 2006; Andersson et al., 2006; Holick et al., 2007, Malignes Melanom: Hutchinson et al., 2000, Ovarialkarzinom: Clendenen et al., 2008; Nierenzellkarzinom: Obara et al., 2007). In anderen Studien zeigte sich bei Personen mit dem VDR Taq1-Polymorphismus ein statistisch signifikant verändertes Krebsrisiko (Brustkrebs: Abbas et al., 2008; Curran et al., 1999; Lundin et al., 1999; McCullough et al., 2007; Prostata Krebs: Taylor et al., 1996; Tayeb et al., 2004; Medeiros et al., 2002; Onsory et al., 2008; Correa-Cerro et al., 1999; Malignes Melanom: Li et al., 2007; Kolorektalkarzinom: Slattery et al., 2001; Yalim-Eraltan et al., 2007; Ovarialkarzinom: Lurie et al., 2007; Nierenzellkarzinom: Ikuyama et al., 2002). In einer Brustkrebsstudie (McCullough et al., 2007) wurde gezeigt, dass die Wirkung des VDR Taq1-Polymorphismus durch bestimmte Ernährungsfaktoren wie der täglichen Kalziumeinnahme moduliert wird. In dieser Studie hatten Frauen mit dem tt-Genotyp, die täglich >902 mg Kalzium über die Nahrung aufnahmen ein verringertes Brustkrebsrisiko.

In der vorliegenden Dissertation zeigten sich jedoch bei Betrachtung der Apa1-Allele A und a sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Plattenepithelkarzinomgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (Plattenepithelkarzinom: a-Allels 48,0%, A-Allels 52,0%; Kontrollgruppe: a- und A-Allel: je 50%) (siehe Tabelle 12).

Schlussfolgernd konnte in der vorliegenden Dissertation keine signifikante Assoziation zwischen dem VDR Apa1-Polymorphismus und dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden. Die, für andere Krebsarten berichteten Assoziationen mit dem VDR-Apa1-Polymorphismus sollten jedoch zu weiteren Forschungen in dieser Richtung ermutigen. Aufgrund der bestehenden Trends (gehäuftes Vorkommen des heterozygoten Apa1 Aa-Genotyps bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen), die in der vorliegenden Dissertation jedoch keine statistische Signifikanz erlangten und der bisher nur vereinzelt publizierten Studien von VDR-Polymorphismen bei epithelialen Hauttumoren sind umfangreichere Studien notwendig um eindeutige Erkenntnisse zu erlangen.

5.2. Der VDR Taq1-Polymorphismus

5.2.1. Lage und Funktionalität des VDR Taq1-Polymorphismus

Der Taq1-Polymorphismus ist ein RFLP im Codon 352 (rs 731236) des Exons 9 am 3' Ende des VDR-Gens. Je nach Vorhandensein der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym kommt es zu einer Spaltung des Genprodukts in zwei Fragmente der Länge 495 bp und 245 bp (T-Allel) oder in drei Fragmente der Länge 290 bp, 245 bp und 205 bp (t-Allel). Das T-Allel besitzt dabei eine geringere Aktivität als das t-Allel und geht mit niedrigeren 25(OH)D3 Serumspiegeln einher (Hustmyer et al., 1993; Morrison et al., 1994; Ma et al., 1998). Individuen werden eingeteilt in die Genotypen tt (homozygot für den Taq1-Polymorphismus), Tt (heterozygot für den Taq1-Polymorphismus) und TT (Fehlen der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym).

Gemäß Fang et al., 2003 führt der VDR Taq1-Polymorphismus zu keiner Änderung in der Aminosäuresequenz des VDR-Proteins. Somit bleibt sein Einfluss auf das VDR-Protein unklar, wobei die Annahme besteht, dass Varianten am 3' Ende des VDR-Gens einen möglichen Einfluss auf die mRNA Stabilität und somit auf die Regulation der VDR-Gen Transkription haben (Uitterlinden et al., 2004).

Durch das enge Beieinanderliegen einiger Polymorphismen einschließlich des Taq1-Polymorphismus am 3' Ende des VDR-Gens besteht ein starkes LD (Linkage Disequilibrium)

(siehe Tabelle 6). Dies könnte auf ein erhöhtes Plattenepithelkarzinomrisiko des heterozygoten Genotyps hindeuten, während homozygote Apa1-Genotypen eher protektiven Charakter aufweisen. Obwohl diesbezügliche Ergebnisse in der vorliegenden Studie nicht statistisch relevant waren ($p=0,589$), könnte sich dieser Trend in weiteren Studien mit höheren Fallzahlen bestätigen.

Im Widerspruch dazu wurde in einer australischen Studie (Carless et al., 2008) über einen schützenden Effekt des heterozygoten Genotyps Aa im Vergleich zu den homozygoten Apa1 (AA+aa)-Genotypen bei Aktinischen Keratosen, einer Vorstufe von Plattenepithelkarzinomen, berichtet. In dieser Studie hatten hellhäutige Menschen mit den VDR AA/aa-Genotypen ein ca. 8-fach erhöhtes Risiko Aktinische Keratosen zu entwickeln im Vergleich zu einem nur 5-fach erhöhten Risiko bei hellhäutigen Individuen mit dem heterozygoten Aa-Genotyp. Eine mögliche Ursache für die widersprüchlichen Ergebnisse zwischen letztgenannter Studie und der vorliegenden Dissertation könnte an den unterschiedlichen Patientenkollektiven sowie an weiteren Faktoren wie beispielsweise der erhöhten UV-Belastung der australischen Bevölkerung liegen. Die Aktinische Keratose als Folge chronischer Lichtschäden der Haut gilt als Vorstufe von Plattenepithelkarzinomen. Dennoch sollte man bedenken, dass bisher nicht geklärt werden konnte ob die Verteilung von VDR Polymorphismen in beiden Hauterkrankungen identisch ist oder ob Mutationen im VDR Gen eine Rolle im Übergang von Aktinischen Keratosen in Plattenepithelkarzinome spielen.

In einer Krankenhaus basierten Fall-Kontroll-Studie (Li et al., 2006), die 602 Patienten mit Malignem Melanom und 603 gesunden Individuen kaukasischer Abstammung umfasste wurde bei Individuen mit dem VDR Taq1 t-Allel ein geringeres Melanomrisiko festgestellt und das t-Allel als protektives Allel bezeichnet. Aufgrund des nachgewiesenen starken Linkage Disequilibriums zwischen dem VDR Taq1 t-Allel und dem VDR Apa1 A-Allel (Haplotyp 2: BAt, Bsm1 B; Apa1 A; Taq1 t) (Fang et al., 2005) wäre ein ebenfalls protektiver Charakter des Apa1 A-Allels für Hautkrebs möglich. Dabei ist zu beachten, dass es sich in der Studie von Li et al., 2006 um eine Untersuchung von Malignen Melanomen handelte und man nicht sicher davon ausgehen kann, dass diese Ergebnisse auch für Plattenepithelkarzinome Gültigkeit haben. Ein protektiver Charakter des Apa1 A-Allels zeigte sich auch in einer anderen Studie, die den Apa1-Polymorphismus bei Prostatakarzinompatienten untersuchte (Cicek et al., 2006) und bei Individuen mit einem oder zwei Apa1 A-Allelen ein reduziertes Prostatakarzinom feststellte (OR= 0,64; 95% KI: [0,39; 1,03]; $p=0,03$), das sogar noch stärker hervortrat bei Patienten mit fortgeschrittenem Karzinom (OR= 0,48; $p=0,002$).

Basalzellkarzinomgruppe nur geringfügig seltener vorkam als in der Kontrollgruppe (27,5%) (siehe Tabelle 6). Andere Studien, die den Einfluss des Apa1-Polymorphismus auf andere Krebsarten untersuchten, ergaben widersprüchliche Ergebnisse. In einer japanischen Nierenzellkarzinom-Studie (Obara et al., 2007) zeigte sich ein signifikant gehäuftes Vorkommen des Apa1 AA-Genotyps bei Patienten mit Nierenzellkarzinom als in der gesunden Kontrollgruppe (OR= 2,5; p= 0,012). Unter den Brustkrebsstudien, fanden sowohl eine finnische Studie (Sillanpää et al., 2004) (OR= 0,003) als auch eine taiwanesishe Studie (Hou et al., 2002) (OR=0,515, 95% KI: [0,190; 1.398]) ein stark reduziertes Brustkrebsrisiko bei Frauen mit dem aa-Genotyp. Hou et al., 2002 berichtete ebenfalls von einer deutliche Risikoerniedrigung bei Frauen mit dem Apa1-Aa-Genotyp (OR= 0,33; 95% KI: [0,114; =,978]), wohingegen in einer amerikanischen Studie (Curran et al., 1999) dieselben Apa1 Aa- und -aa-Genotypen zu einem erhöhten Brustkrebsrisiko führten (OR= 1,56; p=0,016). Ein möglicher Grund dieser sich widersprechenden Ergebnisse könnte dabei die unterschiedliche Bevölkerungsgruppe der untersuchten Patienten und die unterschiedlichen Fall-Kontrollzahlen dieser Studien sein (Hou et al., 2002: 80/169; Curran et al., 1999: 135/110; Sillanpää et al., 2004: 483/482; Obara et al., 2007: 135/ 150). Bei Betrachtung der zusammengefassten Genotypen Apa1 aa+Aa mit Hinblick auf Basalzellkarzinome, (siehe Tabelle 21) bestand in der vorliegenden Dissertation kein statistisch signifikanter Unterschied in der Verteilung der zusammengesetzten VDR-Apa1-Genotypen zwischen der Basalzellkarzinom- und der Kontrollgruppe (p= 0,835). Schlussfolgernd ergab sich in der vorliegenden Disseration kein Anhalt für eine Alteration des Basalzellkarzinomrisikos durch den VDR Apa1-Polymorphismus und auch andere Studien zeigten bezüglich der Assoziation von VDR Apa1-Polymorphismen und Malignomrisiko widersprüchliche Ergebnisse.

5.1.4.3. Der Apa1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen

Die Betrachtung der Genotypen des Apa1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe erfolgte mit dem Ziel mögliche Abweichungen in den Häufigkeiten der Apa1-Genotypen zwischen diesen beiden Gruppen festzustellen und dadurch Rückschlüsse auf eine Alteration des Plattenepithelkarzinomrisikos durch den Apa1-Polymorphismus zu ziehen.

Dabei fiel auf, dass der heterozygote Genotyp Apa1 Aa im Vergleich zur Kontrollgruppe gehäuft in der Plattenepithelkarzinomgruppe auftrat (50,7% vs. 45,1%), wohingegen die homozygoten Apa1-Genotypen häufiger in der Kontrollgruppe (aa+AA: 54,9%) vorkamen

homozygoten Genotypen (aa-Genotyp; AA-Genotyp) gleich häufig (27,5%) vorkamen (siehe Tabelle 3). Das Apa1 A-Allel sowie das Apa1 a-Allel kamen zu je 50% vor (siehe Tabelle 9). In einer australischen Studie (Carless et al., 2008), die ein Kollektiv von 182 gesunden Kontrollpersonen australischer Abstammung umfasste betrug die Aa Genotyp-Häufigkeit 63%, die Häufigkeit des A-Allels 58% und die des a-Allels 42%. Ein möglicher Grund für die Abweichungen bezüglich der Genotypen- und Allelhäufigkeiten zwischen den beiden Studien könnte an der unterschiedlichen Fallzahl (51 vs. 182) liegen, wobei durch hohe Fallzahlen eine genauere Annäherung an die tatsächliche Verteilung der untersuchten Polymorphismen in der Bevölkerung erreicht werden kann.

5.1.4.2. Der Apa1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen

In der vorliegenden Dissertation wurden VDR Apa1-Genotypen bei Patienten mit Basalzellkarzinomen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe unter dem Aspekt einer möglichen Assoziation mit dem Auftreten von Basalzellkarzinomen untersucht.

Unter den Patienten mit Basalzellkarzinomen hatten >50% aller Patienten den heterozygoten VDR Apa1 Aa-Genotyp (53,4%), wobei dieser in der Kontrollgruppe nur zu 45,1% vorkam (siehe Tabelle 6). Darüber hinaus kam innerhalb der Basalzellkarzinomgruppe letztgenannter heterozygoter Genotyp Aa (53,4%) häufiger vor als die beiden zusammengefassten homozygoten Genotypen aa+AA (46,6%) (siehe Tabelle 15). Schlussfolgernd wäre eine mögliche Assoziation des heterozygoten Apa1-Genotyps mit einem erhöhten Basalzellkarzinomrisiko denkbar. Obwohl in der vorliegenden Studie keine statistische Relevanz vorlag ($p=0,662$), könnte ein signifikantes Ergebnis bei höherer Fallzahl möglich sein. Ein stark erhöhtes Krebsrisiko für den heterozygoten Apa1 Aa-Genotyp zeigte sich hingegen in einer Studie (Lurie et al., 2007), die 313 Frauen kaukasischen und japanischer Herkunft (72 Kaukasierinnen und 241 Japanerinnen) mit Ovarialkarzinom untersuchte und bei Frauen mit dem Apa1 Aa-Genotyp ein 3-fach erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko feststellte ($OR=2,8$), wobei dies in einer weiteren aktuellen Ovarialkarzinom-Studie (Clendenen et al., 2008), die 170 Fälle und 323 Kontrollen umfasste, nicht bestätigt werden konnte. In der vorliegenden Dissertation zeigte die Betrachtung der Apa1-Allele A und a eine gleichmäßige Verteilung dieser Allele sowohl in der Basalzellkarzinom- als auch in der Kontrollgruppe (BCC: A-Allel: 51,4%, a-Allel: 48,6%; Kontrollgruppe: A-Allel: und a-Allel je 50%) (siehe Tabelle 9) ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p=0,897$). Somit besteht kein statistisch signifikanter Anhalt für ein modifiziertes Basalzellkarzinomrisiko durch Apa1-Allele. Dies zeigt sich auch für den Apa1 AA-Genotyps (24,7%), der in der

Chaimuanraj et al., 2006). Laut einer aktuellen Studie konnte ebenfalls keine Korrelation zwischen dem VDR Apa1-Polymorphismus und der Häufigkeit des Auftretens von Ovarialkarzinomen nachgewiesen werden (Clendenen et al., 2008). In anderen Studien wurde das Apa1 A-Allel tendenziell mit einem erhöhten Krebsrisiko in Verbindung gebracht (Mammakarzinom: Hou et al., 2002; Sillanpää et al., 2004; Ovarialkarzinom: Lurie et al., 2007; Nierenzellkarzinom: Obara et al., 2007) wohingegen das Apa1 a-Allel eher mit einem erniedrigten Karzinomrisiko einherging (Mammakarzinom: Hou et al., 2002; Sillanpää et al., 2004). Curran et al., 1999 wies für das a-Allel ein erhöhtes Mammakarzinom-Risiko nach und in einer großen US-Studie (Cicek et al., 2006; 439 Fälle/479 Kontrollen) wurde das Apa1 A-Allel als wichtiger prognostischen Faktor für ein erniedrigtes Prostatakarzinom-Risiko bezeichnet. Obara et al. berichteten 2007 über einen prognostischen Überlebensvorteil bei japanischen Patienten mit Nierenzellkarzinom und dem Apa1 AA-Genotyp.

5.1.3. VDR Apa1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen der Haut

Eine aktuelle, in 2008 publizierte australische Studie (Carless et al., 2008) berichtete über einen Zusammenhang zwischen dem VDR Apa1-Polymorphismus und der Vorstufe des kutanen Plattenepithelkarzinoms, der Aktinischen Keratose. In dieser Studie zeigte sich in hellhäutigen Patienten mit den homozygoten Genotypen AA/aa ein >7 fach erhöhtes Risiko (OR= 7.6; KI [4.0-14.7]; $p < 0,001$) Aktinische Keratosen zu entwickeln verglichen mit hellhäutigen Menschen und dem Aa-Genotyp, die nur ein 5-fach erhöhtes Risiko aufwiesen (OR= 4.9; KI [2,7-8,9]; $p < 0,001$). Bei Analyse der Apa1-Genotypen ohne Einbeziehen des Hauttyps, der für sich gesehen mit dem Risiko Aktinische Keratosen zu entwickeln korrelierte, zeigte sich ein ähnlicher Trend, wobei dieser nicht statistisch signifikant war.

5.1.4. Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Apa1-Polymorphismus

5.1.4.1. Der VDR Apa1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen

Die Untersuchung der Häufigkeiten von VDR Apa1-Genotypen in der Kontrollgruppe erfolgte zur Überprüfung der Repräsentativität der Kontrollgruppe für die kaukasische Bevölkerung bezüglich des Apa1-Polymorphismus.

Es zeigte sich, dass der heterozygote VDR Apa1-Polymorphismus (Aa-Genotyp) unter den gesunden Kontrollpersonen am häufigsten auftrat (45,1%), wohingegen die beiden

5. DISKUSSION

In dieser Arbeit wurde die Häufigkeit bestimmter VDR-Polymorphismen in der deutschen Bevölkerung untersucht. Es sollte die Frage untersucht werden, ob sich Hinweise für eine Assoziation bestimmter VDR-Polymorphismen mit dem Auftreten von epithelialen Hauttumoren finden. Solche Zusammenhänge sind in der Literatur für andere Malignome gut belegt. Inzwischen konnten auch die molekulare Struktur auf genomischer Ebene und die funktionelle Bedeutung dieser VDR-Polymorphismen zumindest teilweise charakterisiert werden.

5.1. Der VDR-Apa1-Polymorphismus

5.1.1. Struktur und Funktionalität des VDR-Apa1-Polymorphismus

Der Apa1-Polymorphismus gehört zu den stillen Einzelnukleotidpolymorphismen (rs 7975232) im Intron 8 an dem 3' Ende des VDR-Gens. Entsprechend geht man davon aus, dass dieser VDR-Polymorphismus zu keinerlei Änderung der Aminosäuresequenz in dem kodierten Protein führt. Dennoch ist ein Einfluss auf die Genexpression durch Regulierung der mRNA Stabilität nicht auszuschließen (Jurutka et al., 2001). Das Apa1 A-Allel entspricht dem Vorhandensein der Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym wohingegen das Apa1 a-Allel für Abwesenheit dieser Schnittstelle steht.

5.1.2. VDR Apa1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen

Nach aktueller Datenlage wurde bisher nur in wenigen Studien über den Apa1-Polymorphismus berichtet. Mehrere Studien berichten über mögliche Assoziationen mit malignen Tumorerkrankungen, darunter Mammakarzinom, Prostatakarzinom, Ovarialkarzinom und Nierenzellkarzinom (Mammakarzinom: Curran et al., 1999; Hou et al., 2002; Sillanpää et al., 2004; Prostatakarzinom: Cicek et al., 2006; Ovarialkarzinom: Lurie et al., 2007; Nierenzellkarzinom: Obara et al., 2007). Studien, die den VDR Apa1-Polymorphismus bei Patienten mit einem Prostatakarzinom untersuchten, konnten tendenziell keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des VDR Apa1-Polymorphismus und dem Auftreten und der Prognose von Prostatakarzinomen finden (Habuchi et al., 2000; Huang et al., 2004; Maistro et al., 2004; Oakley-Girvan et al., 2004;

Tabelle 46: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Plattenepithelkarzinomen

			Bgl1			Gesamt
			BB	Bb	bb	
Altersgruppe	bis 60 Jahre	Anzahl	1	2	2	5
		% von Altersgruppe	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%
		% von Bgl1	5,6%	4,9%	9,1%	6,2%
	über 60 Jahre	Anzahl	17	39	20	76
		% von Altersgruppe	22,4%	51,3%	26,3%	100,0%
		% von Bgl1	94,4%	95,1%	90,9%	93,8%
Gesamt		Anzahl	18	41	22	81
		% von Altersgruppe	22,2%	50,6%	27,2%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Taq1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre bei Plattenepithelkarzinomen; p= 0,835

> 60 Jahre (51,4%) als in der Altersgruppe < 60 Jahre (40%) vertreten. Der homozygote Genotyp Bgl1 bb war in der Altersgruppe < 60 Jahre häufiger (40%) (siehe Tabelle 46).

Die Verteilung der VDR-Polymorphismen (Apa1: $p=0,702$; Taq1: $p=1,000$; Bgl1: $p=0,835$) unterschied sich in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht signifikant innerhalb der beiden Altersgruppen (Tabellen nicht dargestellt).

Tabelle 44: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Apa1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Plattenepithelkarzinomen

			Apa1			Gesamt
			AA	Aa	aa	
Altersgruppe	bis 60 Jahre	Anzahl	1	2	2	5
		% von Altersgruppe	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%
		% von Apa1	5,0%	5,3%	11,8%	6,7%
	über 60 Jahre	Anzahl	19	36	15	70
		% von Altersgruppe	27,1%	51,4%	21,4%	100,0%
		% von Apa1	95,0%	94,7%	88,2%	93,3%
Gesamt		Anzahl	20	38	17	75
		% von Altersgruppe	26,7%	50,7%	22,7%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Apa1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre bei Plattenepithelkarzinomen; $p=0,702$

Tabelle 45: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Taq1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Plattenepithelkarzinomen

			Taq1			Gesamt
			TT	Tt	tt	
Altersgruppe	bis 60 Jahre	Anzahl	2	2	1	5
		% von Altersgruppe	40,0%	40,0%	20,0%	100,0%
		% von Taq1	7,1%	5,6%	5,9%	6,2%
	über 60 Jahre	Anzahl	26	34	16	76
		% von Altersgruppe	34,2%	44,7%	21,1%	100,0%
		% von Taq1	92,9%	94,4%	94,1%	93,8%
Gesamt		Anzahl	28	36	17	81
		% von Altersgruppe	34,6%	44,4%	21,0%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Taq1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre bei Plattenepithelkarzinomen; $p=1,000$

Tabelle 42: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Taq1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Basalzellkarzinomen

			Taq1			Gesamt
			TT	Tt	tt	
Altersgruppe bis 60 Jahre	Anzahl		3	6	1	10
	% von Altersgruppe		30,0%	60,0%	10,0%	100,0%
	% von Taq1		15,0%	13,3%	11,1%	13,5%
über 60 Jahre	Anzahl		17	39	8	64
	% von Altersgruppe		26,6%	60,9%	12,5%	100,0%
	% von Taq1		85,0%	86,7%	88,9%	86,5%
Gesamt	Anzahl		20	45	9	74
	% von Altersgruppe		27,0%	60,8%	12,2%	100,0%
	% von Taq1		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Taq1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre bei Basalzellkarzinomen; p= 1,000

Tabelle 43: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Basalzellkarzinomen

			Bgl1			Gesamt
			BB	Bb	bb	
Altersgruppe bis 60 Jahre	Anzahl		3	5	2	10
	% von Altersgruppe		30,0%	50,0%	20,0%	100,0%
	% von Bgl1		15,8%	12,2%	13,3%	13,3%
über 60 Jahre	Anzahl		16	36	13	65
	% von Altersgruppe		24,6%	55,4%	20,0%	100,0%
	% von Bgl1		84,2%	87,8%	86,7%	86,7%
Gesamt	Anzahl		19	41	15	75
	% von Altersgruppe		25,3%	54,7%	20,0%	100,0%
	% von Bgl1		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Bgl1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre bei Basalzellkarzinomen; p= 1,000

4.9.2. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Plattenepithelkarzinomen

In der Plattenepithelkarzinomgruppe war der heterozygote Genotyp VDR Apa1 Aa >10% häufiger in der Altersgruppe > 60 Jahre (51,4%) als in der Altersgruppe < 60 Jahre (40,0%) (siehe Tabelle 44) wohingegen die VDR-Taq1-Genotypen innerhalb beider Altersgruppen homogen verteilt waren (siehe Tabelle 44-45). Der VDR-Genotyp Taq1 TT (34,2%) war bei Patienten > 60 Jahre geringfügig seltener vertreten als in Patienten < 60 Jahre (40,0%) (siehe Tabelle 45). Der heterozygote Genotyp VDR Bgl1 Bb war >10% häufiger in der Altersgruppe

4.9. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahren mit epithelialen Hauttumoren

4.9.1. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahren mit Basalzellkarzinomen

Die Verteilung der VDR-Apa1-Genotypen war in beiden Altersgruppen relativ homogen. In der Altersgruppe <60 Jahre war der Wildtyp Genotyp Apa1 AA (30%) geringfügig höher als in der Altersgruppe >60 Jahre (23%) (siehe Tabelle 41). Der homozygote VDR-Taq1-Genotyp tt war in beiden Altersgruppen (10% und 12,5%) selten vertreten wohingegen der heterozygote VDR Taq1-Genotyp Tt in beiden Altersgruppen häufig vorkam (siehe Tabelle 42). Der heterozygote VDR Bgl1-Polymorphismus Bb war in beiden Altersgruppen am häufigsten vertreten. Der Wildtyp Genotyp BB war in der Altersgruppe < 60 Jahren (30%) geringfügig häufiger vorhanden als in der Altersgruppe > 60 Jahren (24,6%) (siehe Tabelle 43). Die Verteilung der VDR-Polymorphismen Apa1 ($p= 0,902$), Taq1 ($p= 1,000$) und Bgl1 ($p= 1,000$) in der Basalzellkarzinomgruppe unterschied sich nicht signifikant innerhalb der beiden Altersgruppen (Tabellen nicht dargestellt).

Tabelle 41: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Apa1 bei Patienten < versus >= 60 Jahre mit Basalzellkarzinomen

			Apa1			Gesamt
			AA	Aa	aa	
Altersgruppe	bis 60 Jahre	Anzahl	3	5	2	10
		% von Altersgruppe	30,0%	50,0%	20,0%	100,0%
		% von Apa1	17,6%	13,2%	12,5%	14,1%
	über 60 Jahre	Anzahl	14	33	14	61
		% von Altersgruppe	23,0%	54,1%	23,0%	100,0%
		% von Apa1	82,4%	86,8%	87,5%	85,9%
Gesamt		Anzahl	17	38	16	71
		% von Altersgruppe	23,9%	53,5%	22,5%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung von Häufigkeiten der Apa1-Genotypen in den Altersgruppen < 60 Jahre und >60 Jahren bei Basalzellkarzinomen; $p= 0,902$

Tabelle 39: VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei Basalzellkarzinomen

	OR	95,0% KI	
		Unterer Wert	Oberer Wert
Geschlecht (männlich)	4,663	2,035	10,685
Apa1 (aa, Referenzkategorie)			
Apa1 (AA)	,455	,011	18,352
Apa1 (Aa)	.450	,016	12,973
Taq1 (tt, Referenzkategorie)			
Taq1 (TT)	,338	,045	2,530
Taq1 (Tt)	,660	,142	3,060
Bgl1 (bb, Referenzkategorie)			
Bgl1 (BB)	1,508	,050	45,669
Bgl1 (Bb)	2,790	,109	71,431

OR= Odds Ratio; KI: Konfidenzintervall

Tabelle 40: VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei Plattenepithelkarzinomen

	OR	95,0% KI	
		Unterer Wert	Oberer Wert
Geschlecht (männlich)	4,429	1,931	10,155
Apa1 (aa, Referenzkategorie)			
Apa1 (AA)	1,373	,073	25,924
Apa1 (Aa)	1,152	,059	22,620
Taq1 (tt, Referenzkategorie)			
Taq1 (TT)	,261	,032	2,129
Taq1 (Tt)	,275	,052	1,462
Bgl1 (bb, Referenzkategorie)			
Bgl1 (BB)	,230	,023	2,310
Bgl1 (Bb)	1,059	,078	14,380

OR= Odds Ratio; KI: Konfidenzintervall

Tabelle 38: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren

Gruppe				Bgl1			Gesamt
				BB	Bb	bb	
BCC	Geschlecht	männlich	Anzahl	14	30	14	58
			% von Geschlecht	24,1%	51,7%	24,1%	100,0%
		weiblich	Anzahl	6	11	1	18
			% von Geschlecht	33,3%	61,1%	5,6%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	20	41	15	76
			% von Geschlecht	26,3%	53,9%	19,7%	100,0%
PECA	Geschlecht	männlich	Anzahl	16	33	15	64
			% von Geschlecht	25,0%	51,6%	23,4%	100,0%
		weiblich	Anzahl	2	8	7	17
			% von Geschlecht	11,8%	47,1%	41,2%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	18	41	22	81
			% von Geschlecht	22,2%	50,6%	27,2%	100,0%
Kontrollgruppe	Geschlecht	männlich	Anzahl	6	9	8	23
			% von Geschlecht	26,1%	39,1%	34,8%	100,0%
		weiblich	Anzahl	9	13	6	28
			% von Geschlecht	32,1%	46,4%	21,4%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	15	22	14	51
			% von Geschlecht	29,4%	43,1%	27,5%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des Bgl1-Polymorphismus bei Männern und Frauen mit Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und bei der Kontrollgruppe; $p=0,633$

4.8.3. VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei epithelialen Hauttumoren

In der logistischen Regression war sowohl in der Basalzellkarzinomgruppe als auch in der Plattenepithelkarzinomgruppe allein der Parameter „Geschlecht“ signifikant (siehe Tabellen 39-40). Das Odds Ratio betrug für die Basalzellkarzinomgruppe 4,66 (95%-KI: [2,0; 10,6]) und für die Plattenepithelkarzinomgruppe 4,43 (95%-KI: [1,93; 10,16]). Das bedeutet, dass das Risiko der Männer 4,6mal bzw. 4,4mal größer ist als das Risiko der Frauen, ein Karzinom zu bekommen. Die VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 hatten keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Entwicklung von Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen, da die zugehörigen Konfidenzintervalle den Wert 1 enthalten (siehe Tabellen 39-40).

Tabelle 37: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Taq1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren

Gruppe				Taq1			Gesamt
				TT	Tt	tt	
BCC	Geschlecht	männlich	18	18	34	6	58
			31,0%	31,0	58,6%	10,3%	100,0%
		weiblich	2	2	11	4	17
			11,8%	11,8%	64,7%	23,5%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	20	45	10	75
		% von Geschlecht	26,7%	60,0%	13,3%	100,0%	
PECA	Geschlecht	männlich	19	19	30	15	64
			29,7%	29,7%	46,9%	23,4%	100,0%
		weiblich	9	9	6	2	17
			52,9%	52,9%	35,3%	11,8%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	28	36	17	81
		% von Geschlecht	34,6%	44,4%	21,0%	100,0%	
Kontrollgruppe	Geschlecht	männlich	10	10	10	3	23
			43,5%	43,5%	43,5%	13,0%	100,0%
		weiblich	9	9	14	4	27
			33,3%	33,3%	51,9%	14,8%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	19	24	7	50
		% von Geschlecht	38,0%	48,0%	14,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des Taq1-Polymorphismus bei Männern und Frauen mit Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und bei der Kontrollgruppe; $p=0,798$

In der Kontrollgruppe war die Verteilung der einzelnen Genotypen für das männliche versus weibliche Geschlecht homogen (siehe Tabelle 36-38). Der heterozygote VDR-Genotyp kam in der Kontrollgruppe bei allen untersuchten Polymorphismen am häufigsten vor (Apa1 Aa Männer: 39,1%, Frauen: 50,0%; Taq1: Männer:43,5%; Frauen:41,9%; Bgl1: Männer: 39,9%; Frauen: 46,4%) (siehe Tabelle 36-38).

Es bestand generell kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und den VDR-Polymorphismen (Apa1: $p= 0,592$; Taq1: $p= 0,798$; Bgl1: $p= 0,633$) in der Kontrollgruppe (Tabellen nicht dargestellt).

Tabelle 36: Häufigkeiten von VDR-Polymorphismus Apa1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren

Gruppe				Apa1			Gesamt
				AA	Aa	aa	
BCC	Geschlecht	männlich	Anzahl	13	28	15	56
			% von Geschlecht	23,2%	50,0%	26,8%	100,0%
		weiblich	Anzahl	5	10	1	16
			% von Geschlecht	31,3%	62,5%	6,3%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	18	18	16	72
			% von Geschlecht	25,0%	25,0%	22,2%	100,0%
PECA	Geschlecht	männlich	Anzahl	18	31	11	60
			% von Geschlecht	30,0%	51,7%	18,3%	100,0%
		weiblich	Anzahl	2	7	6	15
			% von Geschlecht	13,3%	46,7%	40%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	20	20	17	75
			% von Geschlecht	26,7%	26,7%	22,7%	100,0%
Kontrollgruppe	Geschlecht	männlich	Anzahl	6	9	8	23
			% von Geschlecht	26,1%	39,1%	34,8%	100,0%
		weiblich	Anzahl	8	14	6	28
			% von Geschlecht	28,6%	50,0%	21,4%	100,0%
	Gesamt		Anzahl	14	14	14	51
			% von Geschlecht	27,5%	27,5%	27,5%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des Apa1-Polymorphismus bei Männern und Frauen mit Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und bei der Kontrollgruppe; $p=0,592$

heterozygote Taq1 Tt-Genotyp war in beiden Geschlechtern mit 58,6 % bei den männlichen Patienten und 64,7 % bei den weiblichen Patienten häufiger vertreten als die beiden anderen Genotypen. Auffällig war der niedrige Anteil des Taq1 TT-Genotyps unter den Patienten weiblichen Geschlechts (11,8%) (siehe Tabelle 37). Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Taq1-Polymorphismus ($p=0,180$) bei Basalzellkarzinomen (Tabelle nicht dargestellt). Der VDR Bgl1-Genotyp konnte innerhalb der Basalzellkarzinomgruppe bei 58 Männern und 18 Frauen untersucht werden (siehe Tabelle 38). Der heterozygote VDR Bgl1 Bb-Genotyp war mit 51,7 % und 61,1% (männliches versus weibliches Geschlecht) der vorherrschende Genotyp in beiden Geschlechtergruppen. Der VDR Bgl1 bb-Genotyp war in der Basalzellkarzinomgruppe unter den weiblichen Patienten (5,6 %) am seltensten vertreten (siehe Tabelle 38). Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Bgl1-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen ($p=0,261$) (Tabelle nicht dargestellt).

Die Plattenepithelkarzinomgruppe enthielt 60 männliche und 15 weibliche Patienten bei denen der VDR Apa1-Polymorphismus untersucht wurde und je 64 männliche und 17 weibliche Patienten bei denen die VDR-Polymorphismen Taq1 und Bgl1 untersucht wurden (siehe Tabelle 36-38).

Die heterozygoten Genotypen Apa1 Aa (männliches Geschlecht: 51,7%; weibliches Geschlecht: 46,7%) und Bgl1 Bb (männliches Geschlecht: 51,6% weibliches Geschlecht: 47,1%) waren in beiden Geschlechtern am häufigsten vertreten (siehe Tabelle 36, 38). Männliche Patienten der Plattenepithelkarzinomgruppe hatten zu 30% den Apa1-AA-Genotyp, weibliche Patienten zu 40% den Apa1 aa-Genotyp (siehe Tabelle 36). Insgesamt bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Apa1-Polymorphismus ($p=0,182$) bei Plattenepithelkarzinomen.

Der VDR Taq1 TT-Genotyp war bei Frauen mit Plattenepithelkarzinomen (52,9 %) deutlich häufiger vorhanden als bei Männern dieser Gruppe (29,7%). Der homozygote Genotyp Taq1 tt war in beiden Geschlechtern selten vertreten (Männer: 23,4%, Frauen: 11,8%) (siehe Tabelle 37) Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Taq1-Polymorphismus ($p=0,177$) bei Plattenepithelkarzinomen.

Weibliche Patienten der Plattenepithelkarzinomgruppe wiesen häufig den VDR Bgl1 BB-Genotyp auf (41,2%) (siehe Tabelle 38) wobei insgesamt kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Bgl1-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen ($p=0,268$) vorlag (Tabelle nicht dargestellt).

Tabelle 34: Häufigkeiten von Basalzellkarzinomen bei weiblichem versus männlichem Geschlecht

			Gruppe		Gesamt
			BCC	Kontrollgruppe	
Geschlecht	männlich	Anzahl	58	23	81
		% von Geschlecht	71,6%	28,4%	100,0%
		% von Gruppe	76,3%	45,1%	63,8%
	weiblich	Anzahl	18	28	46
		% von Geschlecht	39,1%	60,9%	100,0%
		% von Gruppe	23,7%	54,9%	36,2%
Gesamt	Anzahl	76	51	127	
	% von Geschlecht	59,8%	40,2%	100,0%	
	% von Gruppe	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Basalzellkarzinomen bei Männern und Frauen; $p=0,000$

Tabelle 35: Häufigkeiten von Plattenepithelkarzinomen bei weiblichem versus männlichem Geschlecht

			Gruppe		Gesamt
			PECA	Kontrollgruppe	
Geschlecht	männlich	Anzahl	64	23	87
		% von Geschlecht	73,6%	26,4%	100,0%
		% von Gruppe	79,0%	45,1%	65,9%
	weiblich	Anzahl	17	28	45
		% von Geschlecht	37,8%	62,2%	100,0%
		% von Gruppe	21,0%	54,9%	34,1%
Gesamt	Anzahl	81	51	132	
	% von Geschlecht	61,4%	38,6%	100,0%	
	% von Gruppe	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Plattenepithelkarzinomen bei Männern und Frauen; $p=0,000$

4.8.2. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren

Die Basalzellkarzinomgruppe enthielt 56 männliche und 16 weibliche Patienten bei denen der VDR Apa1-Polymorphismus untersucht wurde. Der heterozygote VDR Apa1 Aa-Genotyp war sowohl bei Männern (50%) als auch bei Frauen (62,5%) der häufigste Genotyp. Der homozygote Genotyp Apa1 aa war unter den Frauen am seltensten vertreten (6,3%) (siehe Tabelle 34). Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem VDR Apa1-Polymorphismus ($p=0,245$) bei Basalzellkarzinomen (siehe Tabelle 34). Unter den Patienten der Basalzellkarzinomgruppe, bei denen der VDR Taq1-Polymorphismus untersucht wurde, waren 58 Männer und 17 Frauen (siehe Tabelle 37). Der

Tabelle 33: Häufigkeit des Bgl1 VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Bgl1			Gesamt
			BB	Bb	bb	
Lokalisation	Chronisch	Anzahl	18	35	19	72
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	25,0%	48,6%	26,4%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	92,1%	86,4%	92,3%
	Nicht chronisch	Anzahl	0	3	3	6
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	,0%	50,0%	50,0%	100,0%
		% von Bgl1	,0%	7,9%	13,6%	7,7%
Gesamt		Anzahl	18	38	22	78
		% von Lokalisation	23,1%	48,7%	28,2%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Bgl1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Plattenepithelkarzinomen; $p=0,356$

4.8. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren

4.8.1. Häufigkeiten von epithelialen Hauttumoren bei männlichen versus weiblichen Individuen

In der Basalzellkarzinomgruppe waren die meisten Patienten männlichen Geschlechts (76,3%), während nur 23,7 % der Patienten das weibliche Geschlecht hatten. 79% der Individuen mit Plattenepithelkarzinomen hatten das männliche Geschlecht. Die Anzahl der weiblichen Individuen mit Plattenepithelkarzinomen betrug nur 21,0% (siehe Tabelle 35). In der Kontrollgruppe war die Geschlechterverteilung mit 45,1% Männern und 54,9% Frauen gleichmäßig verteilt (siehe Tabelle 34-35). Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor Geschlecht und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen ($p=0,000$) und Plattenepithelkarzinomen ($p=0,000$) (Tabelle nicht dargestellt).

Die VDR-Genotypen Bgl1 bb (homozygot für den Bgl1-Polymorphismus: 25,0%) und Bgl1 BB (Abwesenheit der Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym: 26,4%) kamen in äquivalenten Anteilen in chronisch sonnenexponierter Haut vor (siehe Tabelle 33). Bei Plattenepithelkarzinomen auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut kam der homozygote Genotyp Bgl1 bb nicht vor. Der heterozygote Genotyp Bgl1 Bb und der Genotyp Bgl1 BB (Abwesenheit der Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym) kamen zu je 50% vor (siehe Tabelle 33). Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Bgl1-Polymorphismus und der Lokalisation ($p=0,356$)

Tabelle 31: Häufigkeit des Apa1 VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Apa1			Gesamt
			AA	Aa	aa	
Lokalisation	Chronisch	Anzahl	19	32	16	67
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	28,4%	47,8%	23,9%	100,0%
		% von Apa1	95,0%	91,4%	94,1%	93,1%
	Nicht chronisch	Anzahl	1	3	1	5
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
		% von Apa1	5,0%	8,6%	5,9%	6,9%
Gesamt		Anzahl	20	35	17	72
		% von Lokalisation	27,8%	48,6%	23,6%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Apa1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Plattenepithelkarzinomen; $p=1,000$

Tabelle 32: Häufigkeit des Taq1 VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Taq1			Gesamt
			TT	Tt	tt	
Lokalisation	Chronisch	Anzahl	25	31	16	72
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	34,7%	43,1%	22,2%	100,0%
		% von Taq1	92,6%	91,2%	94,1%	92,3%
	Nicht chronisch	Anzahl	2	3	1	6
	Sonnenexponiert	% von Lokalisation	33,3%	50,0%	16,7%	100,0%
		% von Taq1	7,4%	8,8%	5,9%	7,7%
Gesamt		Anzahl	27	34	17	78
		% von Lokalisation	34,6%	43,6%	21,8%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR Taq1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Plattenepithelkarzinomen; $p=1,000$

Tabelle 30: Häufigkeit des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Bgl1			Gesamt
			BB	Bb	bb	
Lokalisation	Chronisch	Anzahl	19	34	12	65
	sonnenexponiert	% von Lokalisation	29,2%	52,3%	18,5%	100,0%
		% von Bgl1	95,0%	82,9%	80,0%	85,5%
	Nicht chronisch	Anzahl	1	7	3	11
	sonnenexponiert	% von Lokalisation	9,1%	63,6%	27,3%	100,0%
		% von Bgl1	5,0%	17,1%	20,0%	14,5%
Gesamt		Anzahl	20	41	15	76
		% von Lokalisation	26,3%	53,9%	19,7%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Bgl1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Basalzellkarzinomen; $p = 0,415$

4.7.2. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

Der Gesamtanteil an Plattenepithelkarzinomen auf chronisch sonnenexponierter Haut war bei den untersuchten Individuen unabhängig von den untersuchten VDR-Polymorphismen mit Anteilen >90% deutlich höher als auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut (siehe Tabelle 31-33). Unabhängig von der Lokalisation war der heterozygote Genotyp sowohl in Plattenepithelkarzinomen auf chronisch sonnenexponierter (Apa1 Aa: 47,8%; Taq1 Tt: 43,1%; Bgl1 Bb: 48,6%) als auch auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut (Apa1 Aa: 60%; Taq1 Tt: 50%; Bgl1 Bb: 50%) am häufigsten vertreten (siehe Tabelle 31-33). Die Verteilung der Apa1-Genotypen aa und AA war in beiden Lokalisationen homogen. In Plattenepithelkarzinomen auf chronisch sonnenexponierter Haut war der Apa1 AA-Genotyp (Abwesenheit der Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym) geringfügig höher (28,4%) als auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut (20,0%) (siehe Tabelle 31). Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Apa1-Polymorphismus und der Lokalisation ($p = 1,000$).

In chronisch sonnenexponierter (34,7%) und nicht chronisch sonnenexponierter Haut (33,3%) kam der Taq1 TT-Genotyp (Abwesenheit der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym) häufiger vor als der homozygote Taq1 tt-Genotyp (siehe Tabelle 32). Der homozygote Genotyp Taq1 tt kam (22,2%) häufiger bei Plattenepithelkarzinomen auf chronisch sonnenexponierter Haut vor (siehe Tabelle 32). Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Taq1-Polymorphismus und der Lokalisation ($p = 1,000$).

während nur 9,1% der Basalzellkarzinome auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut diesen Genotyp aufwiesen (siehe Tabelle 30).

Zusammenfassend bestand kein statistisch signifikanter Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens der VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1: $p=0,431$; Taq1: $p=0,730$; Bgl1: $p=0,415$) in sonnenexponierter Haut im Vergleich zu nicht sonnenexponierter Haut.

Tabelle 28: Häufigkeit des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Apa1			Gesamt
			AA	Aa	aa	
Lokalisation	Chronisch sonnenexponiert	Anzahl	17	31	13	61
		% von Lokalisation	27,9%	50,8%	21,3%	100,0%
		% von Apa1	94,4%	81,6%	81,3%	84,7%
	Nicht chronisch sonnenexponiert	Anzahl	1	7	3	11
		% von Lokalisation	9,1%	63,6%	27,3%	100,0%
		% von Apa1	5,6%	18,4%	18,8%	15,3%
Gesamt	Anzahl	18	38	16	72	
	% von Lokalisation	25,0%	52,8%	22,2%	100,0%	
	% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Apa1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Basalzellkarzinomen; $p=0,431$

Tabelle 29: Häufigkeit des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

			Taq1			Gesamt
			TT	Tt	tt	
Lokalisation	Chronisch sonnenexponiert	Anzahl	16	39	9	64
		% von Lokalisation	25,0%	60,9%	14,1%	100,0%
		% von Taq1	80,0%	86,7%	90,0%	85,3%
	Nicht chronisch sonnenexponiert	Anzahl	4	6	1	11
		% von Lokalisation	36,4%	54,5%	9,1%	100,0%
		% von Taq1	20,0%	13,3%	10,0%	14,7%
Gesamt	Anzahl	20	45	10	75	
	% von Lokalisation	26,7%	60,0%	13,3%	100,0%	
	% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Taq1-Polymorphismus in chronisch sonnenexponierter und nicht chronisch exponierter Haut bei Basalzellkarzinomen; $p=0,730$

Tabelle 27: Häufigkeiten der VDR-Genotypen Apa1, Taq1 und Bgl1 bei epithelialen Hauttumoren versus Kontrollgruppe

			Genotyp										Gesamt
			aaTTbb	aaTTBB	AaTtbb	AaTtBb	AaTtBB	AaTTBb	AAttbb	AAttBB	AATtBB	AATTBB	aaTTbb
Gruppe	BCC	Anzahl	15	0	0	33	1	6	0	10	8	0	73
		% von Gruppe	20,5%	,0%	,0%	45,2%	1,4%	8,2%	,0%	13,7%	11,0%	,0%	100,0%
	PECA	Anzahl	14	3	1	29	2	7	5	11	3	0	75
		% von Gruppe	18,7%	4,0%	1,3%	38,7%	2,7%	9,3%	6,7%	14,7%	4,0%	,0%	100,0%
	Blut	Anzahl	4	10	1	19	0	2	0	7	5	2	50
		% von Gruppe	8,0%	20,0%	2,0%	38,0%	,0%	4,0%	,0%	14,0%	10,0%	4,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	33	13	2	81	3	15	5	28	16	2	198
		% von Gruppe	16,7%	6,6%	1,0%	40,9%	1,5%	7,6%	2,5%	14,1%	8,1%	1,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten der VDR-Genotypen welche die Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 enthalten in Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe.

4.7. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei epithelialen Hauttumoren in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

4.7.1. Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut

Der Gesamtanteil der Basalzellkarzinome auf chronisch sonnenexponierter Haut war bei den untersuchten Individuen unabhängig von den VDR Apa1-, Taq1- und Bgl1-Polymorphismen (Apa1: 84,7%; Taq1: 85,3%; Bgl1: 85,5%) deutlich höher als auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut, wo der prozentuale Anteil bei ca. 15% lag. Sowohl in Basalzellkarzinomen auf chronisch sonnenexponierter Haut (Apa1: 50,8%; Taq1: 60,9%; Bgl1: 52,3%) als auch auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut (Apa1 Aa: 63,6%; Taq1 Tt: 54,5%; Bgl1 Bb: 63,6%) waren die heterozygoten Genotypen prozentual am häufigsten vertreten (siehe Tabellen 28-30). Auffällig war der niedrige Anteil des Apa1-AA-Genotyps (Abwesenheit der Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym) (9,1%) sowie des Taq1-tt-Genotyps (9,1%) in Basalzellkarzinomen auf nicht chronisch sonnenexponierter Haut (siehe Tabelle 28-29). 29,2% der Basalzellkarzinome auf chronisch sonnenexponierter Haut hatten den Bgl1-BB-Genotyp (Abwesenheit der Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym),

Tabelle 26: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1: bb+Bb) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1 BB) aufweisen bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			bb+Bb	BB	
Gruppe	PECA	Anzahl	63	19	82
		% von Gruppe	76,8%	23,2%	100,0%
		% von Bgl1	63,6%	55,9%	61,7%
Kontrollgruppe		Anzahl	36	15	51
		% von Gruppe	70,6%	29,4%	100,0%
		% von Bgl1	36,4%	44,1%	38,3%
Gesamt		Anzahl	99	34	133
		% von Gruppe	74,4%	25,6%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym aufweisen (Bgl1 bb+Bb) und dem BB-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Plattenepithelkarzinomen versus Kontrollgruppe; Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: p= 0,540

4.6. Häufigkeiten der untersuchten VDR-Genotyp bei epithelialen Hauttumoren versus Kontrollgruppe

Der am häufigsten vorkommende Genotyp in den Tumorgruppen sowie in der Kontrollgruppe war der Genotyp AaTtBb (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) mit einem Gesamtanteil von 40,9% (BCC: 45,2%, PECA 38,7%, Kontrollgruppe:38%). Der zweithäufigste Genotyp mit einem geringeren Gesamtanteil (16,7%) war der Genotyp aaTTbb (Apa1 aa, Taq1 TT, Bgl1 bb). Der Anteil des Genotypes aaTTbb (Apa1 aa, Taq1 TT, Bgl1 bb) wich in seiner Verteilung innerhalb der Tumorgruppen (BCC: 20,5%; PECA 18,7%) und der Kontrollgruppe (8%) deutlich ab. Ein weiterer relativ häufig auftretender Genotyp war mit einem Gesamtanteil von 14,1% der Genotyp AAttBB (Apa1 AA, Taq1 tt, Bgl1 BB). Bei diesem Genotyp bestanden keine Unterschiede in der Verteilung zwischen den Tumorgruppen (BCC: 13,7%; PECA: 14,7%) und der Kontrollgruppe (14,0%).

Der Genotyp aaTTBB war mit 20 % stark in der Kontrollgruppe vertreten, fehlte jedoch fast vollständig in den Tumorgruppen (BCC: 0%, PECA 4%) (siehe Tabelle 27).

Tabelle 24: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 aa+Aa) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 AA) aufweisen bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			aa+Aa	AA	
Gruppe	PECA	Anzahl	55	20	75
		% von Gruppe	73,3%	26,7%	100,0%
		% von Apa1	59,8%	58,8%	59,5%
Kontrollgruppe		Anzahl	37	14	51
		% von Gruppe	72,5%	27,5%	100,0%
		% von Apa1	40,2%	41,2%	40,5%
Gesamt		Anzahl	92	34	126
		% von Gruppe	73,0%	27,0%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym aufweisen (Apa1 AA+aa) und dem AA-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Plattenepithelkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 1,000$

Tabelle 25: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 tt+Tt) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 TT) aufweisen) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			tt+Tt	TT	
Gruppe	PECA	Anzahl	54	28	82
		% von Gruppe	65,9%	34,1%	100,0%
		% von Taq1	63,5%	59,6%	62,1%
Kontrollgruppe		Anzahl	31	19	50
		% von Gruppe	62,0%	38,0%	100,0%
		% von Taq1	36,5%	40,4%	37,9%
Gesamt		Anzahl	85	47	132
		% von Gruppe	64,4%	35,6%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym aufweisen (Taq1 tt+Tt) und dem TT-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Plattenepithelkarzinomen versus Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,710$

Tabelle 23: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1 bb+Bb) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1 BB) aufweisen bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			bb+Bb	BB	
Gruppe	BCC	Anzahl	57	20	77
		% von Gruppe	74,0%	26,0%	100,0%
		% von Bgl1	61,3%	57,1%	60,2%
	Kontrollgruppe	Anzahl	36	15	51
		% von Gruppe	70,6%	29,4%	100,0%
		% von Bgl1	38,7%	42,9%	39,8%
Gesamt	Anzahl	93	35	128	
	% von Gruppe	72,7%	27,3%	100,0%	
	% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym aufweisen (Bgl1 bb+Bb) und dem BB-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Basalzellkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,690$

4.5.3. Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Genotypen, die die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym enthalten (aa+Aa) waren sowohl in der Plattenepithelkarzinomgruppe (73,3%) als auch in der Kontrollgruppe (72,5%) zu fast gleichen Anteilen vorhanden (siehe Tabelle 24) und wiesen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Plattenepithelkarzinomgruppe (65,9%) und der Kontrollgruppe auf ($p=1,000$).

Die Genotypen, die die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym enthalten (tt+Tt) waren in der Plattenepithelkarzinomgruppe (65,9%) geringfügig häufiger als in der Kontrollgruppe (62,0%) (siehe Tabelle 25). Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p=0,710$).

Der Anteil der Genotypen, die die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym enthalten (bb+Bb), war in der Plattenepithelkarzinomgruppe (76,8 %) mäßig höher als in der Kontrollgruppe (70,6%) (siehe Tabelle 26). Die Verteilung der Bgl1-Genotypen unterschied sich nicht statistisch signifikant in der Plattenepithelkarzinomgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p=0,540$).

4.5.2. Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Tabelle 21: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 aa+Aa) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 AA) aufweisen bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			aa+Aa	AA	
Gruppe	BCC	Anzahl	55	18	73
		% von Gruppe	75,3%	24,7%	100,0%
		% von Apa1	59,8%	56,3%	58,9%
Kontrollgruppe		Anzahl	37	14	51
		% von Gruppe	72,5%	27,5%	100,0%
		% von Apa1	40,2%	43,8%	41,1%
Gesamt		Anzahl	92	32	124
		% von Gruppe	74,2%	25,8%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym aufweisen (Apa1 AA+aa) und dem AA-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Basalzellkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p = 0,835$

Tabelle 22: Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 tt+Tt) aufweisen und VDR- Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 TT) aufweisen) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			tt+Tt	TT	
Gruppe	BCC	Anzahl	55	21	76
		% von Gruppe	72,4%	27,6%	100,0%
		% von Taq1	64,0%	52,5%	60,3%
Kontrollgruppe		Anzahl	31	19	50
		% von Gruppe	62,0%	38,0%	100,0%
		% von Taq1	36,0%	47,5%	39,7%
Gesamt		Anzahl	86	40	126
		% von Gruppe	68,3%	31,7%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen, die die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym aufweisen (Taq1 tt+Tt) und dem TT-Genotyp, bei dem die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym nicht vorhanden ist in Basalzellkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle : $p = 0,245$

Tabelle 20: Häufigkeiten der homozygoten Bgl1-Genotypen (bb+BB) und des heterozygoten Bgl1-Genotyps (Bb) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			BB+bb	Bb	
Gruppe	PECA	Anzahl	41	41	82
		% von Gruppe	50,0%	50,0%	100,0%
		% von Bgl1	58,6%	65,1%	61,7%
	Kontrollgruppe	Anzahl	29	22	51
		% von Gruppe	56,9%	43,1%	100,0%
		% von Bgl1	41,4%	34,9%	38,3%
Gesamt	Anzahl	70	63	133	
	% von Gruppe	52,6%	47,4%	100,0%	
	% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Bgl1 bb+BB) und heterozygoten Genotypen (Bgl1 Bb-Genotyp) des VDR-Bgl1-Polymorphismus in Plattenepithelkarzinomen versus Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,479$

4.5. Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei epithelialen Hauttumoren im Vergleich zur Kontrollgruppe

4.5.1. Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Genotypen, die die Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym enthalten waren sowohl in der Basalzellkarzinomgruppe (75,3%) als auch in der Kontrollgruppe (72,5%) stark vertreten (siehe Tabelle 21) und zeigten in ihrer Häufigkeit keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Basalzellkarzinom- und der Kontrollgruppe ($p=0,835$).

Der Anteil der Genotypen, die die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym enthalten (tt+Tt) war in der Basalzellkarzinomgruppe (72,4%) tendenziell, jedoch nicht signifikant häufiger vertreten als in der Kontrollgruppe (62,0%) (siehe Tabelle 22) ($p=0,245$).

In der Basalzellkarzinomgruppe (74%) kamen die Genotypen, die die Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym (bb+Bb) enthalten geringfügig häufiger vor als in der Kontrollgruppe (70,6%) (siehe Tabelle 23). Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p=0,690$).

Tabelle 18: Häufigkeiten der homozygoten Apa1-Genotypen (aa+AA) und des heterozygoten Apa1-Genotyps (Aa) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			AA+aa	Aa	
Gruppe	PECA	Anzahl	37	38	75
		% von Gruppe	49,3%	50,7%	100,0%
		% von Apa1	56,9%	62,3%	59,5%
Kontrollgruppe		Anzahl	28	23	51
		% von Gruppe	54,9%	45,1%	100,0%
		% von Apa1	43,1%	37,7%	40,5%
Gesamt		Anzahl	65	61	126
		% von Gruppe	51,6%	48,4%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Apa1 AA+aa) und heterozygoten Genotypen (Apa1 Aa-Genotyp) des VDR-Apa1-Polymorphismus in Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,589$

Tabelle 19: Häufigkeiten der homozygoten Taq1-Genotypen (tt+TT) und des heterozygoten Taq1-Genotyps (Tt) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			TT+tt	Tt	
Gruppe	PECA	Anzahl	46	36	82
		% von Gruppe	56,1%	43,9%	100,0%
		% von Taq1	63,9%	60,0%	62,1%
Kontrollgruppe		Anzahl	26	24	50
		% von Gruppe	52,0%	48,0%	100,0%
		% von Taq1	36,1%	40,0%	37,9%
Gesamt		Anzahl	72	60	132
		% von Gruppe	54,5%	45,5%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Taq1 tt+TT) und heterozygoten Genotypen (Taq1 Tt-Genotyp) des VDR-Taq1-Polymorphismus in Plattenepithelkarzinomen versus Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,720$

Tabelle 17: Häufigkeiten der homozygoten Bgl1-Genotypen (bb+BB) und des heterozygoten Bgl1-Genotyps (Bb) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			BB+bb	Bb	
Gruppe	BCC	Anzahl	35	42	77
		% von Gruppe	45,5%	54,5%	100,0%
		% von Bgl1	54,7%	65,6%	60,2%
Kontrollgruppe		Anzahl	29	22	51
		% von Gruppe	56,9%	43,1%	100,0%
		% von Bgl1	45,3%	34,4%	39,8%
Gesamt		Anzahl	64	64	128
		% von Gruppe	50,0%	50,0%	100,0%
		% von Bgl1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Bgl1 bb+BB) und heterozygoten Genotypen (Bgl1-Bb-Genotyp) des VDR-Bgl1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen, versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,279$

4.4.2. Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei Plattenepithelkarzinomen und Kontrollgruppe

In der Plattenepithelkarzinomgruppe war der heterozygote Genotyp Apa1 Aa (50,7%) in der gleichen Häufigkeit vertreten wie der zusammengesetzte Genotyp Apa1 aa+AA (49,3%). In der Kontrollgruppe war das Verteilungsgleichgewicht zugunsten des zusammengesetzten Genotyps Apa1 aa+AA verschoben (aa+AA: 54,9%; AA: 45,1%) (siehe Tabelle 18). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Häufigkeiten der Apa1-Genotypen in der Basalzellkarzinom- und Kontrollgruppe ($p=0,589$). Die homozygoten Taq1-Genotypen (TT+tt) kamen sowohl in der Plattenepithelkarzinomgruppe als auch in der Basalzellkarzinomgruppe häufig vor, wobei dies in der Plattenepithelkarzinomgruppe deutlicher ausgeprägt war (56,1% vs. 52,0%) (siehe Tabelle 19). Die Verteilung der Taq1-Polymorphismen unterschied sich in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p=0,720$). Der heterozygote Genotyp Bgl1 Bb (50%) und die homozygoten Genotypen Bgl1 bb+BB (50%) waren in der Plattenepithelkarzinomgruppe gleich häufig vorhanden. In der Kontrollgruppe kam der zusammengesetzte Genotyp Bgl1 bb+BB (56,9%) um >13% häufiger vor (siehe Tabelle 20). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bgl1-Genotyphäufigkeiten in der Plattenepithelkarzinomgruppe und der Kontrollgruppe ($p=0,479$).

Tabelle 15: Häufigkeiten der homozygoten Apa1-Genotypen (aa+AA) und des heterozygoten Apa1-Genotyps (Aa) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			AA+aa	Aa	
Gruppe	BCC	Anzahl	34	39	73
		% von Gruppe	46,6%	53,4%	100,0%
		% von Apa1	54,8%	62,9%	58,9%
Kontrollgruppe		Anzahl	28	23	51
		% von Gruppe	54,9%	45,1%	100,0%
		% von Apa1	45,2%	37,1%	41,1%
Gesamt		Anzahl	62	62	124
		% von Gruppe	50,0%	50,0%	100,0%
		% von Apa1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Apa1 AA+aa) und heterozygoten Genotypen (Apa1-Aa-Genotyp) des VDR-Apa1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,466$

Tabelle 16: Häufigkeiten der homozygoten Taq1-Genotypen (tt+TT) und des heterozygoten Taq1-Genotyps (Tt) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			TT+tt	Tt	
Gruppe	BCC	Anzahl	31	45	76
		% von Gruppe	40,8%	59,2%	100,0%
		% von Taq1	54,4%	65,2%	60,3%
Kontrollgruppe		Anzahl	26	24	50
		% von Gruppe	52,0%	48,0%	100,0%
		% von Taq1	45,6%	34,8%	39,7%
Gesamt		Anzahl	57	69	126
		% von Gruppe	45,2%	54,8%	100,0%
		% von Taq1	100,0%	100,0%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von homozygoten (Taq1 tt+TT) und heterozygoten Genotypen (Taq1-Tt-Genotyp) des VDR-Taq1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen versus Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p=0,273$

4.4. Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei epithelialen Hauttumoren im Vergleich zur Kontrollgruppe

4.4.1. Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

In der Basalzellkarzinomgruppe war der heterozygote Genotyp (Apa1 Aa: 53,4%) tendenziell häufiger vertreten als die zusammengefassten homozygoten Genotypen (Apa1 AA+aa 46,6%) während in der Kontrollgruppe die homozygoten Genotypen (Apa1 AA+aa: 54,9%) häufiger vorkamen (siehe Tabelle 15). Die Verteilung der Apa1-Polymorphismen unterschied sich in der Basalzellkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p=0,466$).

Der heterozygote Genotyp Taq1 Tt (59,2%) war in der Basalzellkarzinomgruppe deutlich, jedoch nicht signifikant ($p=0,273$) häufiger vertreten als die homozygoten Genotypen Taq1 tt+TT (40,8%). In der Kontrollgruppe war die Verteilung der Genotypen relativ homogen, wobei der zusammengesetzte Genotyp Taq1 tt+TT tendenziell häufiger vorkam (52,0 vs. 48,0%) (siehe Tabelle 16). ($p=0,273$)

Der heterozygote Genotyp (Bgl1 Bb: 54,5%) war in der Basalzellkarzinomgruppe häufiger vertreten als der zusammengefasste Genotyp (Bgl1 bb+BB: 45,5%) während in der Kontrollgruppe der zusammengefasste Genotyp (Bgl1 bb+BB: 56,9 %) deutlich häufiger vorkam (siehe Tabelle 17). Die Verteilung der Bgl1-Polymorphismen unterschied sich in der Basalzellkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p=0,279$).

in der Kontrollgruppe 49,0 % (b-Allel) und 51,0 % (B-Allel) (siehe Tabelle 14). Die Verteilung der Bgl1-Allele unterschied sich in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p= 0,706$).

Tabelle 12: Allelhäufigkeiten des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			a	A	
Gruppe	PECA	Anzahl	72	78	150
		% von Gruppe	48,0%	52,0%	
Kontrollgruppe		Anzahl	51	51	102
		% von Gruppe	50,0%	50,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	123	129	252
		% von Gruppe	48,8%	51,2%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Apa1-Allelen in Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle : $p= 0,798$

Tabelle 13: Allelhäufigkeiten des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			t	T	
Gruppe	PECA	Anzahl	72	92	164
		% von Gruppe	43,9%	56,1%	
Kontrollgruppe		Anzahl	38	62	100
		% von Gruppe	38,0%	62,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	110	154	264
		% von Gruppe	41,7%	58,3%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Taq1-Allelen in Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,370$

Tabelle 14: Allelhäufigkeiten des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			b	B	
Gruppe	PECA	Anzahl	85	79	164
		% von Gruppe	51,8%	48,2%	
Kontrollgruppe		Anzahl	50	52	102
		% von Gruppe	49,0%	51,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	135	131	266
		% von Gruppe	50,8%	49,2%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Bgl1-Allelen in Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe. Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,706$

Tabelle 11: Allelhäufigkeiten des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1		Gesamt
			b	B	
Gruppe	BCC	Anzahl	72	82	154
		% von Gruppe	46,8%	53,2%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	50	52	102
		% von Gruppe	49,0%	51,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	122	134	256
		% von Gruppe	47,7%	52,3%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Bgl1-Allelen in Basalzellkarzinomen und der Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p = 0,798$

4.3.2. Allelhäufigkeiten verschiedener VDR- Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Apa1-Allele a (Anwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Apa1) und A (Abwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Apa1) waren in der Plattenepithelkarzinomgruppe und der Kontrollgruppe relativ gleichmäßig verteilt. In der Basalzellkarzinomgruppe betrug der Anteil des Apa1 a-Allels 48,0% und des Apa1 A-Allels 52,0%. In der Kontrollgruppe waren beide Apa1-Allele mit einem übereinstimmenden prozentualen Anteil von 50% vertreten (siehe Tabelle 12). Die Verteilung der Apa1-Allele unterschied sich in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p = 0,798$).

Die Allelverteilung des Taq1-Polymorphismus erschien insgesamt ungleichförmiger als die der untersuchten VDR-Polymorphismen Apa1 und Bgl1. Das t-Allel (Anwesenheit der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym) war sowohl in der Plattenepithelkarzinomgruppe (43,9%) als auch in der Kontrollgruppe (38%) seltener vorhanden als das T-Allel (Abwesenheit der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym). Dieser Unterschied war in der Plattenepithelkarzinomgruppe (43,9% vs. 56,1%) geringer als in der Kontrollgruppe (38,0 % vs. 62,0%) (siehe Tabelle 13). Die Verteilung der Taq1-Allele unterschied sich in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p = 0,370$).

Die Allele Bgl1 b (Anwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Bgl1) und B (Abwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Bgl1) erschienen sowohl in der Plattenepithelkarzinomgruppe als auch in der Kontrollgruppe relativ einheitlich verteilt. In der Plattenepithelkarzinomgruppe betrug der Anteil des b-Allels 51,8% und des B-Allels 48,2%,

signifikant ($p= 0,513$) geringer ausgeprägt als in der Kontrollgruppe (38,0 % vs. 62,0%) (siehe Tabelle 10).

Die Allele Bgl1 b (Anwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Bgl1) und B (Abwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Bgl1) waren in beiden Gruppen homogen verteilt und unterschieden sich nicht signifikant in der Basalzellkarzinomgruppe und Kontrollgruppe ($p= 0,798$). In der Basalzellkarzinomgruppe betrug der Anteil des b-Allels 46,8% und des B-Allels 53,2%, in der Kontrollgruppe 49,0 % (b-Allel) und 51,0 % (B-Allel) (siehe Tabelle 11).

Tabelle 9: Allelhäufigkeiten des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1		Gesamt
			a	A	
Gruppe	BCC	Anzahl	71	75	146
		% von Gruppe	48,6%	51,4%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	51	51	102
		% von Gruppe	50,0%	50,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	122	126	248
		% von Gruppe	49,2%	50,8%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Apa1-Allelen in Basalzellkarzinomen und der Kontrollgruppe; Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,879$

Tabelle 10: Allelhäufigkeiten des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1		Gesamt
			t	T	
Gruppe	BCC	Anzahl	65	87	152
		% von Gruppe	42,8%	57,2%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	38	62	100
		% von Gruppe	38,0%	62,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	103	149	252
		% von Gruppe	40,9%	59,1%	100,0%

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Taq1-Allelen in Basaliomen und der Kontrollgruppe. Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,513$

Tabelle 8: Häufigkeiten von Genotypen des VDR- Polymorphismus Bgl1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Bgl1			Gesamt
			BB	Bb	bb	
Gruppe	BCC	Anzahl	20	42	15	77
		% von Gruppe	26,0%	54,5%	19,5%	100,0%
	PECA	Anzahl	19	41	22	82
		% von Gruppe	23,2%	50,0%	26,8%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	15	22	14	51
		% von Gruppe	29,4%	43,1%	27,5%	100,0%
Gesamt		Anzahl	54	105	51	210
		% von Gruppe	25,7%	50,0%	24,3%	100,0%

BCC= Basalzellkarzinom; PECA= Plattenepithelkarzinom,

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Bgl1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe.

Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,418$; Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,662$

4.3. Allelhäufigkeiten verschiedener VDR- Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei epithelialen Hauttumoren in Vergleich zur Kontrollgruppe

4.3.1. Allelhäufigkeiten verschiedener VDR- Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Apa1-Allele a (Anwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Apa1) und A (Abwesenheit der Schnittstelle für das Restriktionsenzym Apa1) waren in der Basalzellkarzinomgruppe und der Kontrollgruppe homogen verteilt. In der Basalzellkarzinomgruppe betrug der Anteil des a-Allels 48,6% und des A-Allels 51,4%. In der Kontrollgruppe waren beide Allele mit einem identischen prozentualen Anteil von 50% vorhanden (siehe Tabelle 9). Die Verteilung der Apa1-Allele unterschied sich in der Basalzellkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe ($p= 0,879$).

Die Taq1-Allele zeigten in der Basalzellkarzinom- und Kontrollgruppe ein tendenziell abweichendes Verteilungsmuster im Vergleich zu den Apa1- und Bgl1-Allelen. Das Taq1 t-Allel (Anwesenheit der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym) war sowohl in der Basalzellkarzinomgruppe (42,8%) als auch in der Kontrollgruppe (38%) seltener vorhanden als das Taq1 T-Allel (Abwesenheit der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym). Dieser Unterschied war in der Basalzellkarzinomgruppe (42,8% vs. 57,2%) statistisch nicht

Tabelle 6: Häufigkeiten von Genotypen des VDR- Polymorphismus Apa1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Apa1			Gesamt
			AA	Aa	aa	
Gruppe	BCC	Anzahl	18	39	16	73
		% von Gruppe	24,7%	53,4%	21,9%	100,0%
	PECA	Anzahl	20	38	17	75
		% von Gruppe	26,7%	50,7%	22,7%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	14	23	14	51
		% von Gruppe	27,5%	45,1%	27,5%	100,0%
Gesamt		Anzahl	52	52	47	199
		% von Gruppe	26,1%	26,1%	23,6	100,0%

BCC= Basalzellkarzinom; PECA= Plattenepithelkarzinom;

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Apa1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe.

Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,662$; Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,796$

Tabelle 7: Häufigkeiten von Genotypen des VDR- Polymorphismus Taq1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe

			Taq1			Gesamt
			TT	Tt	tt	
Gruppe	BCC	Anzahl	21	45	10	76
		% von Gruppe	27,6%	59,2%	13,2%	100,0%
	PECA	Anzahl	28	36	18	82
		% von Gruppe	34,1%	43,9%	22,0%	100,0%
	Kontrollgruppe	Anzahl	19	24	7	50
		% von Gruppe	38,0%	48,0%	14,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	68	105	35	208
		% von Gruppe	32,7%	50,5%	16,8%	100,0%

BCC= Basalzellkarzinom; PECA= Plattenepithelkarzinom,

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Taq1-Polymorphismus in Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und der Kontrollgruppe.

Basalzellkarzinomgruppe versus Kontrolle : $p= 0,429$; Plattenepithelkarzinomgruppe versus Kontrolle: $p= 0,563$

4.2.2. Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1; Taq1, Bgl1) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Es wurden Gewebeproben von 82 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen untersucht.

In der Plattenepithelkarzinomgruppe war der heterozygote Genotyp aller untersuchten Polymorphismen mit Apa1 Aa 50,7 %, Taq1 Tt 43,9% und Bgl1 Bb 50,0% der am häufigsten vorhandene Genotyp. Auffallend war, dass der Anteil des heterozygoten Genotyps Taq1 Tt (43,9%) niedriger war als in der Kontrollgruppe (Taq1 Tt: 48%) während die heterozygoten Genotypen Apa1 Aa (50,7%) und Bgl1 Bb (50,0%) in der Plattenepithelkarzinomgruppe häufiger auftraten als in der Kontrollgruppe (Apa1 Aa: 45,1%, Bgl1 Bb 43,1%). Die Verteilung der homozygoten Träger des Apa1-Polymorphismus (Apa1 aa) sowie der Individuen mit dem Apa1-AA-Genotyp (Abwesenheit der Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym) war mit Prozentsätzen von 22,7%-27,5% gleichmäßig auf beide Gruppen verteilt. Der homozygote Genotyp Taq1 tt trat in der Plattenepithelkarzinomgruppe deutlich häufiger auf als in der Kontrollgruppe (22% vs. 14%), kam jedoch insgesamt im Vergleich zu den beiden Genotypen Taq1 Tt und TT in der Plattenepithelkarzinomgruppe und der Kontrollgruppe eher selten vor. Der prozentuale Anteil der homozygoten Genotypen Bgl1 bb und der BB-Genotypen (Abwesenheit der Schnittstelle für das Bgl1-Restriktionsenzym) war in beiden Gruppen mit Anteilen von 23,9% bis 29,4% gleichmäßig verteilt (siehe Tabellen 6-8). Insgesamt unterschieden sich die Häufigkeiten der untersuchten VDR-Polymorphismen in der Plattenepithelkarzinomgruppe nicht statistisch signifikant von der Kontrollgruppe (Apa1: $p=0,796$; Taq1: $p=0,563$; Bgl1: $p=0,662$).

In allen Gruppen lag der Gesamtanteil der Heterozygoten für jeden der drei untersuchten Polymorphismen bei ca. 50% (49,9%).

Tabelle 5: Häufigkeiten der Genotypen des Bgl1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
Gültig	bb	14	27,5	27,5
	Bb	22	43,1	43,1
	BB	15	29,4	29,4
	Gesamt	51	100,0	100,0

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Apa1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

4.2. Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe

4.2.1. Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe

Es wurden Gewebeproben von 78 Patienten mit Basalzellkarzinom untersucht. In dieser Basalzellkarzinom-Gruppe war die Häufigkeit der heterozygoten Genotypen für alle drei untersuchten VDR-Polymorphismen mit Werten $> 50\%$ (Apa1 Aa: 53,4%; Taq1 Tt: 59,2%; Bgl1 Bb: 54,5%) um ca. 10% höher als in der Kontrollgruppe. Der Anteil an homozygoten Genotypen für alle drei untersuchten Polymorphismen war in der Basalzellkarzinom-Gruppe niedriger als in der Kontrollgruppe, wobei der VDR-Taq1-tt-Genotyp mit 13,2% den niedrigsten Anteil hatte. Die Anteile des homozygoten Genotyps Apa1 aa (21,9%) und des homozygoten Genotyps Bgl1 bb (19,5%) waren in der Basalzellkarzinom-Gruppe höher als in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 6-8).

Die Häufigkeiten der untersuchten VDR-Polymorphismen unterschieden sich zwischen der Basalzellkarzinomgruppe und der Kontrollgruppe nicht signifikant (Apa1: $p=0,662$; Taq1: $p=0,429$; Bgl1: $p=0,418$).

4. Ergebnisse

4.1. VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) in der Kontrollgruppe

Um einen Überblick über die Häufigkeit der zu untersuchenden VDR-Polymorphismen in der allgemeinen Bevölkerung zu erlangen, wurde eine Kontrollgruppe untersucht. Die Kontrollgruppe bestand aus 51 gesunden Probanden im Alter von 20 bis 40 Jahren. Untersucht wurden die VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1, und Bgl1, welche durch die Anwesenheit oder Abwesenheit von Schnittstellen für diese Restriktionsenzyme definiert werden. Der am häufigsten vorkommende Genotyp war für jeden der drei untersuchten Polymorphismen der heterozygote Genotyp mit Apa1 Aa: 45,1%, Taq1 Tt: 48% und Bgl1 Bb: 43,1%. Die Verteilung der anderen beiden Genotypen – homozygot für Anwesenheit und Abwesenheit der Schnittstelle des entsprechenden Restriktionsenzym – war in der Kontrollgruppe für die VDR-Polymorphismen Apa1 und Bgl1 relativ gleichmäßig verteilt mit Prozentsätzen von 27,5 % - 29,4% (siehe Tabellen 3 und 5). Auffallend war der sehr niedrige Anteil (13,7%) des homozygoten tt-Genotyps (Taq1-VDR-Polymorphismus) in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 4).

Tabelle 3: Häufigkeiten der Genotypen des Apa1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
Gültig			
aa	14	27,5	27,5
Aa	23	45,1	45,1
AA	14	27,5	27,5
Gesamt	51	100,0	100,0

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Apa1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

Tabelle 4: Häufigkeiten der Genotypen des Taq1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
Gültig			
tt	7	13,7	14,0
Tt	24	47,1	48,0
TT	19	37,3	38,0
Gesamt	50	98,0	100,0
Fehlend	1	2,0	
Gesamt	51	100,0	

Kreuztabelle zur Darstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Taq1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe

Plattenepithelkarzinomproben, 0 von 4 Basalzellkarzinomproben, 1 Basalzellkarzinomprobe nicht auswertbar) der Wiederholerproben mit den Originalproben verdeutlichte den großen Qualitätsverlust einiger Proben durch die zum Teil 3-jährige Lagerung. Die Wiederholerproben enthielten ausschließlich Proben bei denen das Ergebnis der ersten Sequenzierung nicht eindeutig war.

3.6.9. Interpretation der Daten

Die Sequenzanalyse erfolgte durch eine Kombination der Programme Sequence Analysis 5.2. und CodonCodeAligner. Die Daten wurden dabei direkt automatisch vom Sequenzer in das Analyseprogramm importiert.

3.7. Auswertung der Daten

Der Vergleich innerhalb der Kontingenztafeln (Kreuztabellen) erfolgte mit dem Chi-Quadrat-Test beziehungsweise dem exakten Fischer Test. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ (Exakte Signifikanz 2-seitig) festgelegt. Außerdem wurde mit einer logistischen Regression geprüft, welche Polymorphismen einen Einfluss auf die Entstehung eines Basalioms bzw Plattenepithelkarzinoms haben.

3.6.7. Sephadex-Aufreinigung

Für die Aufreinigung der Sequenzierreaktionen wurde eine Methode der Gelfiltration über Sephadex-Säulen verwendet. Volumina von 10µl werden hierbei durch eine vorbereitete Säulenmatrix zentrifugiert und hierbei niedermolekulare Bestandteile der Reaktion von den höher-molekularen Terminationsprodukten der Sequenzierreaktion getrennt. Um die beschriebenen Säulen zu generieren wurde die vorgefertigte Sephadex-Platte (Millipore) bei 2240 rpm für 5 Minuten abzentrifugiert. Anschließend wurden die Sephadexsäulen mit jeweils 150µl einer 1mM EDTA-Lösung beschichtet und bei 2240 Umdrehungen/Minute für 5 Minuten abzentrifugiert.

Jeweils 10µl einer Formamidlösung wurden in eine Thermo Fast 96 Detection Plate, einer PCR Platte, vorgelegt und mit der gebrauchsfertigen Sephadex-Platte zusammengesetzt. Anschließend wurden je 10µl der Sequenzierreaktion auf die Sephadex-Platte pipettiert und bei 2240 rpm für 5 Minuten zentrifugiert. Anschließend konnte die Sephadex-Platte entfernt und die PCR-Platte mit den aufgereinigten Terminationsprodukten durch eine Septenabdeckplatte verschlossen werden. Die fertigen Sequenzierplatten wurden nun für 2 Minuten bei 90°C denaturiert und im Anschluss daran für 1 Minute abgekühlt. Als letzter Schritt wurden die Platte in den Sequenzer (3730) gestellt und für die Auftrennung der Sequenzierprodukte das Sequenzierer Programm MHC-I (Module zur Auftrennung von Klasse I Seq-RX) gewählt.

3.6.8. Wiederholerproben

Die Sequenzierung der zu untersuchenden DNA-Proben wurde zum Teil durch einen Qualitätsverlust der DNA erschwert, der durch die bis zu 3-jährigen Einbettung in Paraffin bedingt war. Es wurden 13 Proben wiederholt, darunter 5 Basalzellkarzinomproben und 8 Plattenepithelkarzinomproben. Unter den Basalzellkarzinomproben waren 3 VDR-Apa1-Polymorphismus-Proben, die jedoch bis auf 1 Probe, die nicht auswertbar war, mit dem Ergebnis der ersten Sequenzierung übereinstimmten; 1 VDR-Bgl1-Polymorphismus-Probe und 1 VDR-Taq1-Polymorphismus-Probe, die beide mit der ersten Sequenzierung übereinstimmten. Unter den Plattenepithelkarzinomproben waren 7 VDR-Bgl1-Polymorphismus-Proben, wobei 6 der 7 Proben nicht mit den Ergebnissen der ersten Sequenzierung übereinstimmten, und 1 VDR-Apa1-Polymorphismus-Probe, die mit der ersten Sequenzierung übereinstimmte. Der hohe Prozentsatz an Nichtübereinstimmungen (6 von 8

artifiziellen ddNTPs, die zu sequenzierende DNA, sowie einen entsprechenden Primer. Die DNA-Polymerase baut nun in statistischer Verteilung ein ddNTP ein, wodurch die Polymerisation abbricht und einzelsträngige Terminations-Produkte unterschiedlicher Länge entstehen, die jedoch immer mit dem gleichen ddNTP enden. Diese Reaktion wird mit allen 4 ddNTPs durchgeführt und die 4 Ansätze in einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese nebeneinander aufgetragen, aus deren Muster man die Basenabfolge ablesen kann. Seit Anfang der 90er-Jahre werden vor allem mit Fluoreszenz-Farbstoffen markierte Didesoxyribonukleosid-Triphosphate eingesetzt, wodurch die Zugabe aller ddNTPs in ein Reaktionsgefäß ermöglicht wird. Die entstehenden Kettenabbauprodukte werden mittels Kapillarelektrophorese aufgetrennt und mit Hilfe eines Lasers zur Fluoreszenz angeregt. Durch die Abfolge der Farbsignale, die durch einen Detektor erkannt werden, ergibt sich direkt die Basenfolge des sequenzierten DNA-Stranges.

Der Ansatz der Reaktionslösung für die Sequenzierung beinhaltetete 1,6µl 5fach-konzentrierten Sequenzierpuffer (Applied Biosystems), 0,8µl Big Dye V3.1 (Masteransatz mit dNTP; Applied Biosystems), 0,6 µl Sequenzierprimer (10µM), 4µl Aquadest. Auf dieses Gesamtvolumen von 7µl wurden noch je 2µl des Exo-CIAP behandelten Amplifikats pipettiert. Für die Cycle-Sequencing-Reaktion wurde das Gerät GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) verwendet. Die Einstellungen wurden wie folgt gewählt (Cycseq-Programm):

1. 96°C 10sec
↓
2. 96°C 7sec
↓
3. 50°C 10sec
↓
4. 60°C 2min
↓
5. 10°C ∞

Die Schritte 2-4 wurden 30x wiederholt.

Als Amplifikationskontrolle wurde eine analytische Agarosegelelektrophorese durchgeführt. Dabei wurden jeweils 5µl des Amplifikats zusammen mit 2µl Ladepuffer auf ein 2%iges Agarosegel aufgetragen und durch Anlegen eines Gleichstromes (100 Volt; 20 min, 4-5 V/cm) separiert und mittels UV-Licht sichtbar gemacht. Dabei wird der interkalierenden Farbstoffs Ethidiumbromid bereits bei der Herstellung des Gels hinzugefügt.

Der Ladepuffer dient dazu, eine höhere Dichte des Probenvolumens zu erreichen und hierdurch das Beladen der Geltaschen zu ermöglichen.

3.6.5. Exo-CIAP-Behandlung

Um zu verhindern, dass bei der nachfolgenden Sequenzierungsreaktion die im Überschuss vorhandenen Primer und Desoxynukleotidtriphosphate zu Hintergrundreaktionen führen, wurden die restlichen 10µl des Amplifikats mit einer Exo-Ciap Behandlung aufgearbeitet. Dabei werden überschüssige Primer durch das Enzym Exonuclease I abgebaut; überschüssige Desoxynukleotidtriphosphate (dNTP) werden durch die CIAP (Calf intestinale Alkalische Phosphatase) in Desoxynukleotiddiphosphate (dNDP) und Desoxynukleotidmonophosphate (dNMP) umgewandelt.

Der Exo-CIAP-Ansatz enthält 66µl CIAP (1 Unit/ µl), 13,4µl Exonuclease I (20 Units/µl) und 580µl Aquadest. Auf 10µl Amplifikat wurden 4µl Exo-CIAP pipettiert. Für die Inkubation in einem Thermocycler (PCR System 9700; Applied Biosystems) wurde folgendes Cycler-Programm gewählt:

1. 37°C: 15 min
2. 85°C: 15 min

3.6.6. DNA-Sequenzierung

Die DNA-Sequenzierung ist ein Verfahren, bei dem die Basensequenz in einem DNA Molekül bestimmt wird. Es existieren mehrere Verfahren zur Analyse- Ablesung der Sequenzinformation von einem DNA-Molekül, wobei hauptsächlich Weiterentwicklungen der Didesoxymethode nach Sanger (1975) Verwendung finden. Dabei handelt es sich um eine enzymatische Methode, die durch Einbau von artifiziellen DNA-Bausteinen, den Didesoxyribonukleosid-Triphosphaten (ddNTP) zum Abbruch der Polymerisationsreaktion führen. Ein Sequenzier-Ansatz nach Sanger enthält die 4 natürlichen dNTPs, eines der 4

- 0,2µl dNTP (10mM)
- 0,15µl bovines Serum Albumin (BSA; 20ng/µl)
- 0,12µl Platinum-Taq (5Units/ µl)
- 1,5µl des dazugehörigen 10fach konzentrierten PCR-Puffer
- 4,2µl Aquadest.

Das Gesamtvolumen des Mastermix betrug 15,2µl für 1 DNA-Probe. Für die eigentliche PCR wurden 15,2µl des Mastermix sowie je 1µl der auf 50ng/µl verdünnten DNA auf die ThermoFast-PCR-Platte (ABgene) pipettiert. Für die Amplifikation der jeweiligen Zielregion wurde ein GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) und das folgende PCR Profil verwendet:

1. 94°: 2min
↓
2. 95°C: 10sec
↓
3. 60°C : 30sec
↓
4. 72°C: 30sec
↓
5. 72°C: 5min
↓
6. 8°C ∞

Die Schritte 2-4 wurden dabei 32x wiederholt.

3.6.4. Agarosegelelektrophorese

Die Agarelektrophorese ist ein molekularbiologisches Verfahren, anhand dessen man PCR-Produkte aufgrund ihrer Größe identifizieren kann. Man verwendet ein elektrisches Feld um die negativ geladenen Nukleinsäure-Moleküle durch eine Gelmatrix zu ziehen, wobei sich kleinere Moleküle schneller durch das Gel bewegen können und somit eine Auftrennung der Stränge nach ihrer Größe ermöglichen. Das Gel kann anschließend unter einer UV-Lampe betrachtet werden, wobei durch Einlagerung des interkalierenden Farbstoffs Ethidiumbromid in die DNA diese sichtbar gemacht wird.

Tabelle 2: Testungsschema zur Bestimmung der optimalen Konzentrationsverhältnisse bei der Amplifikation und Sequenzierung

Forward primer	1 µl	1 µl	2.5 µl	2.5 µl	2.5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
Reverse primer	2.5 µl	5 µl	1 µl	2.5 µl	5 µl	1 µl	2.5 µl	5 µl
PCR Enhancer	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl
Aquadest	44.5 µl	42 µl	44.5 µl	43 µl	40.5 µl	42 µl	40.5 µl	38 µl

Primerkruz: Testungsschema, das als Vorgabe dient, um im Vorfeld der eigentlichen Sequenzierung bei Testdurchläufen die optimalen Konzentrationsverhältnisse der benötigten Reagenzien zu bestimmen. Der jeweilig spezifische Primermix wurde in dem Konzentrationsverhältnis angesetzt, das demjenigen der optimalsten Testprobe entsprach. Das vorliegende Testungsschema wurde von Dr. Rolf Klein der Firma Seq-It GmbH & Co.KG, Kaiserslautern entwickelt und „Primerkruz“ genannt.

Zur Bestimmung der optimalen Konzentrationsverhältnisse wurde mit allen Proben eine PCR durchgeführt und anschließend sequenziert. Für die weiteren Untersuchungen wurde das Konzentrationsverhältnis des spezifischen Primermixes genutzt, welcher im Test die besten Sequenzierergebnisse lieferte.

Dies war für alle Blutproben je 2.5µl des forward Primers (10pmol/µl) und je 1µl des reverse Primers (10pmol/µl). Für die Gewebeproben mussten in Abhängigkeit des jeweiligen SNPs unterschiedliche Konzentrationsverhältnisse eingesetzt werden. Sie betragen für die Analyse der Taq1-Schnittstelle für den forward sowie den reverse Primer je 2,5 µl, für die BglI-Schnittstelle für beide Primer je 5µl, sowie für die Apa1-Schnittstelle forward 2,5 µl und reverse 5 µl.

Diese Primermengen wurden im entsprechenden Konzentrationsverhältnis mit dem PCR Enhancer und Aquadest auf ein Gesamtvolumen von 50µl gemischt.

3.6.3. Herstellung des Mastermixes

Der Mastermix bezeichnet die vollständige Reaktionslösung, in die die DNA für die PCR pipettiert wird. Die Volumenangaben der verwendeten Reagenzien beziehen sich dabei auf das Grundrezept für jeweils 1 Reaktion.

Der Mastermix setzt sich wie folgt zusammen:

- 7,5µl des spezifischen Primermix (die Mengenangabe in mol wird je nach Verdünnung mit der Anfangskonzentration der Primers errechnet)
- 0,54µl Magnesiumchlorid (MgCl₂; 50mM)

3.6.1. Primer zur Bestimmung der zu untersuchenden VDR-Polymorphismen

Jeweils 1µl (50ng/µl), der unter Kapitel 3.4 gewonnenen DNA jeder Probe wurde für die PCR-Reaktion genutzt. Die spezifischen Primer sind Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: spezifische Primer zur PCR der VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 aus Blut und Gewebe

Isolierte DNA	Polymorphismen	Name des Primer	Richtung	Sequenz
DNA aus Blut	Apa1 + Taq1	VDRi8_ex9.1M	forward	5'GTAAAACGACGGCCAGTGTGGTATCACCGGTCAAGCAGTC3''
		VDRi8_ex 9.4	reverse	5'CACTCAGGCTGGAAGGAGAGG3'
	BglI	VDRi8_ex9.3M	forward	5'GTAAAACGACGGCCAGTGCCTATCCACCCAGCCCATTCT3'
		VDRi8_ex9.2	reverse	5'TCTCTGTCCCTGAGGAATGGA3'
DNA aus Gewebe	Apa1	VDRi8_ex 9.1A	forward	5' CAGGACGATCTGTGGGCAC3'
		VDRi8_ex 9.4AM	reverse	5'GTAAAACGACGGCCAGTGCAGGACGATCTGTGGGCAC 3'
	Taq1	VDRi8_ex9.3A	forward	5'TGAGAGCTCCTGTGCCTTCTT3'
		VDRi8_ex9.2A	reverse	5'TGTTGGACAGGCGGTCC5'
	BglI	VDRi8_ex.9.5	forward	5'GGCCTTGCCAGAGATGCC3'
		VDRi8_ex9.2	reverse	5'TCTCTGTCCCTGAGGAATGGA3'

Tabelle zur Darstellung der verwendeten Primer zur Sequenzierung der VDR-Genabschnitte mit den Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 aus DNA, die aus Blut und Gewebe isoliert wurde.

3.6.2. Herstellung des Primermixes

Für jede PCR-Reaktion wurde ein spezifischer Primermix hergestellt. Die jeweiligen Primer können der Tabelle 1 entnommen werden. Um die optimale Primerkonzentration zu bestimmen, wurde ein Primerkreuz als Testverfahren durchgeführt. Dabei wurden die Primerkonzentrate durch Verwenden von AE Puffer (10mM TRIS/ 1mM EDTA pH 8.0) (QIAamp DNA Blood Mini Kit von Qiagen) auf 10pmol/µl (entspr. 10µM) verdünnt und anschließend in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnissen in einer PCR eingesetzt. Das Testmaterial bestand dabei aus DNA, die aus Testblut isoliert wurde. Das Testungsschema ist Tabelle 2 zu entnehmen.

3.5. Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren

Die Photometrische Konzentrationsbestimmung erlaubt den qualitativen und quantitativen Nachweis ebenso wie die Verfolgung der Dynamik chemischer Prozesse von strahlungsabsorbierenden chemischen Verbindungen. Das Absorptionsmaximum reiner DNA liegt bei einer Wellenlänge von 260nm.

Die Konzentration der DNA-Proben wurde bei einer Wellenlänge von 260nm gegen Elutionspuffer als Referenzwert photometrisch gemessen. Dadurch wurde die DNA-Konzentration in der Probenlösung bestimmt. Zusätzlich wurden die Proben bei einer Wellenlänge von 280 nm photometrisch gemessen. Der Quotient aus 260/280 wurde zur Bestimmung der Reinheit der DNA-Präparation berechnet, wobei 100% reine DNA einen Quotienten von 1,8 aufweist. Die Auswahlkriterien zur weiteren Verarbeitung der Proben mit dem PCR- und Sequenzierungsverfahren waren folgende:

- Menge der vorhanden DNA
- Reinheit der gemessenen Nukleinsäureproben

3.6. Polymerase- Kettenreaktion (PCR)

Die PCR und Sequenzierung der aus Blut, Tumor- sowie Kontrollgewebe isolierten DNA erfolgte im Labor Seq-It GmbH & Co. KG, Kaiserslautern.

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine Methode, die eine *in vitro* Vervielfältigung von Nukleinsäuren ermöglicht. Man bedient sich hierbei thermostabiler DNA-Polymerasen, die mit Hilfe eines Primers einen DNA-Einzelstrang zu einem DNA-Doppelstrang zu synthetisieren vermögen. Der PCR-Prozess besteht aus einer Anzahl von 25-50 Zyklen wobei jeder Zyklus aus folgenden Inkubationsschritten besteht: Denaturierung der doppelsträngigen DNA in Einzelstränge bei 94°C, Anlagerung der synthetisch hergestellten Primer an die Einzelstränge (Annealing), Elongation der DNA durch Auffüllen der fehlenden Stränge mit freien Nukleotiden durch die DNA-Polymerase (Extension).

zurückbleibenden DNA- Pellets einige Minuten bei 40°C im Heizblock getrocknet um ein Abdampfen des noch vorhandenen Lösungsmittels zu erzielen. Im Anschluss daran wurde das Pellet in 25µl Aqua purificata gelöst. Die Lagerung erfolgte bei 4°C.

3.4.5. DNA-Isolierung aus Blut

Für die DNA-Isolierung aus Blut wurden Blutproben in EDTA Röhrchen verwendet. Das Blut wurde entweder direkt aufgearbeitet oder, in Ausnahmefällen, max. 24 Stunden vor der Aufarbeitung bei 4°C gelagert. Für die DNA-Isolierung wurde ebenfalls der „High Pure PCR Template Preparation Kit“ der Firma Roche verwendet. Der Vorgang der Isolierung erfolgte streng nach Protokoll.

3.4.5.1. Lymphozyten-Trennung

Bei einigen Blutproben wurde zur Erhöhung der DNA Konzentration vor der DNA-Isolierung eine Lymphozytentrennung vorgenommen.

Zu Beginn des Lymphozytentrennvorgangs wurden in einen 15ml Falcon 3ml Lymphozytentrennmedium vorgelegt. Im Anschluss daran wurde über das Trennmedium vorsichtig 3ml Blut pipettiert, wobei darauf geachtet wurde, dass sich das Blut nicht mit dem Trennmedium vermischt. Anschließend wurde das 2-Phasen-Gemisch ungebremst mit 1200 rpm für zwanzig Minuten zentrifugiert. Die sich nach dem Zentrifugieren in der milchig erscheinenden Interphase angesammelten Lymphozyten wurden vorsichtig entnommen und anschließend zweimal mit 2 ml PBS gewaschen. Ein Waschschrift bestand aus zehnminütiger Zentrifugation bei 1200 rpm, wobei jeweils der Überstand abpipetiert wurde. Beim letzten Waschschrift wurde das Lymphozytenpellet in 200µl PBS aufgenommen. Anschließend wurde das Gemisch in ein Eppendorftube pipettiert. Zur Vorbereitung der DNA Isolation erfolgte zu den Lymphozyten die Zugabe von 200µl Binding Buffer und 40µl Proteinase K. Dieses Gemisch wurde für 10 min bei 70°C inkubiert. Die darauf folgende DNA-Isolierung entspricht der DNA-Isolierung der Gewebeproben und der normalen Blutproben.

3.4.4.2. Vorgang der Isolierung

Am nächsten Tag wurde erneut jeweils 20µl Proteinase K zugefügt und nach sorgfältigem Mischen bei 55°C für 2 Stunden inkubiert. Anschließend wurde jeweils 200µl Bindepuffer in die Eppendorftubes pipettiert und nach gutem Durchmischen weitere 10 min bei 70°C inkubiert. Im Anschluss daran wurde jedem Eppendorftube 100µl Isopropanol zugefügt und erneut gut durchmischt. Für die anschließende Zentrifugation wurden Filtrertubes vorbereitet und in die dafür vorgesehenen Collectiontubes gesetzt. Die Filtrertubes wurden mit den entsprechenden Daten der Proben beschriftet.

Die Proben wurden nun in die entsprechenden Filtrertubes umpipettiert und bei 10.000 rpm 1 Minute lang zentrifugiert. Anschließend wurden je 500µl Inhibitor Removal Buffer den Filtrertubes zugesetzt um ein Auswaschen der DNA in den folgenden Waschschrritten zu vermeiden. Die Proben wurden erneut bei 10.000 rpm 1 Minute lang zentrifugiert. Anschließend folgten 2 Waschschrritte bei denen jeweils 500µl Wasch-Puffer den Filtrertubes zugefügt wurde, wodurch bei dem anschließendem Zentrifugieren (1min, 10.000 rpm) die DNA von Lösungsmittelresten befreit wurde. Um zusätzlich Reste des Wasch-Puffers aus den Filtrertubes zu entfernen, wurden diese nochmals 10 Sekunden lang bei 13.000 rpm trocken abzentrifugiert. Anschließend wurden neue Eppendorftubes bereitgestellt und mit den Daten der Proben beschriftet. Die Filtrertubes wurden in die jeweils entsprechend beschrifteten, unbenutzten Eppendorftubes gesetzt und nach Zugabe von jeweils 100µl, auf 70°C vorgewärmten Elutionspuffer nochmals eine Minute mit 10.000 rpm zentrifugiert. Zur Erzielung quantitativ besserer Ergebnisse wurde der vorhergehende Arbeitsschritt wiederholt. Die sich nun in dem Elutionbuffer eluierte DNA wurde bei 4°C gelagert.

3.4.4.3. Fällung der Proben

Um eine bessere Qualität und Aufkonzentrierung der DNA-Proben zu erzielen wurden alle Gewebeproben sowie einige Blutproben gefällt. Die Fällung der Proben erfolgte streng nach Protokoll. Zu Beginn wurde den DNA Proben, die jeweils in 100µl Elutionspuffer gelöst waren, jeweils 10µl 3 molare Natrium Acetat-Lösung zugegeben. Anschließend wurde jeder Probe 250µl eiskaltes Ethanol hinzugefügt. Die dabei entstandene Lösung wurde gut durchmischt und 30 Minuten bei -70°C gelagert. Nach Ablauf der 30 Minuten wurden die Proben in der auf 4°C heruntergekühlten Zentrifuge zwanzig Minuten lang mit 13.000 rpm zentrifugiert. Der dabei entstandene Überstand wurde vorsichtig abgekippt und die

Die Objektträger wurden in Objektträgerhalter eingeordnet und jeweils mindestens 5 Minuten in die Behälter mit dem jeweiligen Lösungsmittel getaucht.

3.4.3. Färbung der Schnitte

Zur Färbung der Schnitte wurden die Objektträger für eine Sekunde in Hämalaunblau getaucht. Die Färbung war notwendig, um unter dem Binokular das Tumorgewebe von dem gesunden Kontrollgewebe unterscheiden zu können. Um schädigende Einflüsse auf die Struktur der DNA zu vermeiden, wurde auf eine vollständige Hämalaun-Eosin-Kernfärbung verzichtet.

3.4.4. DNA-Isolierung aus Gewebe

Die DNA-Isolierung erfolgte mit Hilfe des „High Pure PCR Template Preparation Kit“ der Firma Roche. Die einzelnen Schritte der Isolierung erfolgten streng nach dem vorgegebenen Protokoll des verwendeten Kits.

3.4.4.1. Entnahme des Tumor- und Kontrollgewebes

Tumor- und Kontrollgewebe wurden getrennt entnommen, wobei das Kontrollgewebe aus tumorfreiem Gewebe bestand, welches sich in der näheren Umgebung des Tumors befand und somit noch durch die Schnitte erfasst wurde. Die getrennte Entnahme des Tumor- und Kontrollgewebes wurde mit 14µm breiten Kanülen vorgenommen, mit Hilfe derer unter Sicht durch ein Binokular erst das Tumorgewebe und anschließend das Kontrollgewebe unter Einhaltung eines Sicherheitsabstandes abgekratzt wurden. Das abgekratzte Gewebe wurde in 1.5 ml Eppendorftubes transferiert, in denen sich jeweils 200µl Gewebe-Lyse-Puffer („High Pure PCR Template Preparation Kit“) befand. Die Beschriftung der Eppendorftubes erfolgte unter Angabe der Gewebenummer und des Exzisionsjahres sowie des Datums der DNA-Isolierung. Nach Zugabe von 40µl Proteinase K und sorgfältigem Mischen der Lösung wurde diese über Nacht bei 37°C inkubiert.

3.3.3. Konzentrationsbestimmung der DNA-Proben

- NanoDrop ND-1000 Spektrophotometer der Firma Peqlab, Erlangen

3.3.4. Polymerase Kettenreaktion

- Thermocycler PCR System 9700 der Firma Applied Biosystems (Carlsbad, California)
- GeneAmp. PCR System 9700 der Firma Applied Biosystems (Carlsbad, California)
- Sephadex Platten: Multicreen-Platten der Firma Millipore (Wien, Österreich) die mit Sephadex G-50 Superfine-Pulver und EDTA (1 μ M) beladet wurden
- Sequencer (3730) der Firma Applied Biosystems (Carlsbad, California)

3.4. DNA-Isolierung

3.4.1. Anfertigung der Schnitte

Aus den Paraffinblöcken mit dem eingebetteten Tumorgewebe wurden mit Hilfe des Mikrotoms je zehn 10 μ m breite Schnitte angefertigt. Die Schnitte wurden auf Objektträger aufgetragen und jeweils über Nacht bei 37°C getrocknet.

3.4.2. Entparaffinierung der Schnitte

Zur Entparaffinierung der Schnitte wurde folgende, im prozentualen Alkoholgehalt absteigende Alkoholreihe verwendet:

100% Xylol

100% Ethanol

80% Ethanol

60% Ethanol

40% Ethanol

	unit/ μ l), Aquadest.
Reaktionslösung für die Sequenzierung	5-fach konzentrierter Sequenzierpuffer der Firma Applied Biosystems, BigDye V 3.1 (Masteransatz mit dNTP der Firma Applied Biosystems); Sequenzierprimer (10 μ M), Aquadest
Agarosegel	5g Agarose, 250ml TAE Puffer, 5 μ l Ethiumbromid

3.3. Verwendete Materialien und Geräte

3.3.1. Anfertigung der Schnitte

- Mikrotom 2030 der Firma Reichert Jung (Heidelberg, Deutschland)

3.3.2. DNA-Isolierung

- Binokular der Firma Wild Heerbrugg (Gais, Schweiz)
- Zentrifugen:
 - Biofuge fresco der Firma Heraeus Instruments (Hanau, Deutschland)
 - Sigma 2K15 der Firma B-Braun (Maria Enzersdorf, Niederösterreich)
 - Megafuge 1.0R der Firma Heraeus Instruments
 - B Hermle GmbH ZK364 (Gosheim, Deutschland)
- Heizblock 1102 Thermoleader der Firma UniEquip (Freital, Deutschland)
- Wasserbad Julabo U3 der Firma Labora (Mannheim, Deutschland)
- Tiefkühltruhe der Firma Sanyo Ultra low (-70°C) (München, Deutschland)
- Pipetten der Firma Abimed und Eppendorf (Langenfeld, Deutschland)
- Eppendorftubes der Firma Sarstedt (Rheinsbach, Deutschland)
- High Pure Filter Tubes: Polypropylen Tubes mit 2schichtiger Glas-Fiber-Fleece Einlage (700 μ l) der Firma Roche (Mannheim, Deutschland)
- Collection Tubes aus Polypropylen (2ml) der Firma Roche (Mannheim, Deutschland)
- 15ml Falkons der Firma Cellstar

Ethanol; pH 7.5

Elutionspuffer

10mM Tris-HCl, pH 8.5

3.2.2. Färben der Schnitte

- Mayers Hämalaunlösung für die Mikroskopie der Firma Merck KGaA (enthält Ethandiol) (Nr: 1.09249)

3.2.3. Fällung der Blutproben

- Natrium-Acetat 3M pH 5
- 100% Ethanol

3.2.4. Lymphozyten-Trennung

- Isopropylalkohol (2-Propanol)
- Lymphozytentrennmedium LSM 1077 Lymphocyte der Firma PAA Laboratories GmbH
- Phosphat Buffer Salyne (PBS); pH 7,6 (hergestellt im Labor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/ Saar; Deutschland)
- Xylol Pharm. Helv.IV (Firma Hedinger, 70327 Stuttgart)
- Gereinigtes Wasser (Aqua purificata)

3.2.5. Polymerase-Kettenreaktion

Lade-Puffer

25mg Bromphenolblau (Roth), 3ml Glycerol (Roth), 7ml Aquadest (Sigma)

AE-Puffer

10mM TRIS /1 mM EDTA pH 8.0 (QIAamp DNA Blood Mini Kit von Qiagen)

Exo-CIAP-Ansatz

Enzym Exonuclease I (20 Units/ μ l), CIAP (Calf intestinale alkalische Phosphatase) (1

Altersgruppe 40-50 Jahre an. 53% der Probanden waren weiblich (27), 47% hatten das männliche Geschlecht (24).

Für die DNA-Isolierung wurde den Probanden Blut entnommen und in EDTA Röhrchen gefüllt. Die Blutproben wurden bereits am gleichen Tag oder in Ausnahmefällen am folgenden Tag verarbeitet.

Die Verarbeitung der Blutproben erfolgte auf z.T. unterschiedliche Weise, da stets versucht wurde die Qualität und Quantität der isolierten DNA zu optimieren. Daher wurden die Blutproben zum Teil mittels Lymphozytentrennung aufbearbeitet, zum Teil gefällt oder in Elution Buffer eluiert.

Von den 50 Blutproben waren zum Zeitpunkt der PCR:

- 27 Proben mittels Lymphozytentrennung aufbearbeitet
- 4 Proben in 25µl Elution-Buffer eluiert
- 3 Proben gefällt
- 16 Proben in 100µl Elution Buffer eluiert.

3.2. Verwendete Lösungen

3.2.1. DNA-Isolierung

Die DNA-Isolierung erfolgte mit dem „High Pure PCR Template Preparation Kit“ (Version 2007) der Firma Roche.

Lyse-Puffer für Gewebe	4M urea, 200mM Tris-Salzsäure, 20mM, NaCl, 200mM, EDTA, pH 7.4
Binde-Puffer	6M Guanidin-HCl, 10mM Harnstoff, 10 mM Tris-HCl, 20% Triton X-100 (v/v), pH 4.4
Proteinase K	Zur Lyse der Proben und Inaktivierung endogener DNase
Inhibitor Removal Buffer	5M Guanidin-HCl, 20mM Tris-HCl, absoluter Ethanol; pH 6.6
Wasch-Puffer	20mM NaCl, 2mM Tris-HCl, absoluter

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Verwendete Gewebe

3.1.1. Basalzellkarzinom- und Plattenepithelkarzinomgewebe

Für die DNA-Isolierung wurde Basaliom- und Plattenepithelkarzinomgewebe von Patienten verwendet, bei denen in den Jahren 2005-2008 an der Universitäts-Hautklinik Homburg/Saar die entsprechende Diagnose gestellt und der Tumor exzidiert wurde.

Die Gruppe der Patienten mit Basalzellkarzinom umfasste 78 Patienten, darunter 23% Frauen (18) und 77% Männer (60). Die Gruppe der Patienten mit Plattenepithelkarzinom umfasste 83 Patienten, darunter 20% Frauen (17) und 80% Männer (66). Innerhalb der Basalzellkarzinomgruppe waren 13% der Patienten < 60 Jahre (10) und 87% \geq 60Jahre. Innerhalb der Plattenepithelgruppe waren 5% der Patienten < 60Jahre (4) und 95% > 60Jahre (79). Zur Abstammung der Patienten wurden keine Daten erhoben.

Das Tumorgewebe wurde mit Formalin fixiert, anschließend in Paraffinblöcke eingebettet und im Labor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie gelagert.

Die Auswahl der Gewebe wurde anhand folgender Kriterien getroffen:

- Größe des Tumors (lichtmikroskopische Betrachtung der zugehörigen histologischen Schnitte)
- Abwesenheit anderer Diagnosen
- Zeit der Lagerung (max. Lagerungszeiten von 3 Jahren, wobei bevorzugt Paraffinblöcke mit Lagerungszeiten von ca 1 Jahr verwendet wurden)

3.1.2. Blut gesunder Probanden

Als Kontrollgruppe wurde eine Gruppe gesunder Probanden ausgewählt, die sich freiwillig und durch Unterschreiben einer Einverständniserklärung bereit erklärt haben an dem Projekt teilzunehmen. Die Kontrollgruppe umfasste Studenten der Universität des Saarlandes sowie einige Mitarbeiter des Labors der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Universität des Saarlandes. Der Großteil der Kontrollgruppe (88%; 45) war europäischer Abstammung, 8% (4) waren arabischer und 4% (2) afrikanischer Abstammung. 90% (46) gehörten der Altersgruppe 20-30 Jahre an, 8% (4) der Altergruppe 30-40 Jahre und 2% (1) der

Risiko für das Auftreten von Malignen Melanomen. Epitheliale Tumoren zeigten die gleiche Tendenz, jedoch waren die Unterschiede statistisch nicht signifikant.

Melanoms (human CMM-derived Xenografts) und verglich den Einfluss von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an diesen Zellen mit VDR-negativen Malignen Melanom Zelllinien. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ führte nur an den VDR-positiven Zellen zu einer Hemmung der Proliferation (Evans et al., 1996; Danielsson et al., 1998).

Die Expression des VDR wurde ebenfalls in normalen Keratinozyten, Basalzellkarzinomzellen und Plattenepithelkarzinomzellen nachgewiesen (Ratnam et al., 1996; Kamradt et al., 2003; Reichrath et al., 2004). Frühere Studien berichteten sowohl bei normalen Keratinozyten als auch bei entarteten Keratinozyten über die gleiche 1α -OHase Aktivität zur lokalen Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Bikle et al., 1991; Sebag et al., 1992; Xie et al., 1998). Aktuellere Studien wiesen in epithelialen Tumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) eine verstärkte Expression von VDR sowie erhöhte Spiegel an mRNA von 1α -OHase, 24-OHase, 25-OHase und höhere 1α -OHase Aktivität nach (Kamradt et al., 2003; Reichrath et al., 2004; Mitschele et al., 2004). Die Autoren schlossen daraus, dass die Modulation der VDR-Expression und die lokale Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Keratinozyten eine wichtige Rolle in der Wachstumsregulation von Plattenepithelkarzinomen spielen könnte.

Auffälligerweise führte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bei Plattenepithelkarzinomzellen nicht zu einer verstärkten Differenzierung der Zellen (Bikle et al., 2004). Als Ursache wurde jedoch ein Verlust an VDR oder eine veränderte Bindungsaffinität von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR ausgeschlossen (Ratnam et al., 1996; Bikle et al., 1991; Sebag et al., 1992). Derzeit deuten Studien auf eine Fehlregulation in der Signaltransduktion des VDR nach Aktivierung durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aus, die durch eine Überexpression von dem DRIP-Koaktivator-Komplex in den entarteten Zellen bedingt zu sein scheint (Bikle et al., 2003).

VDR-Polymorphismen wurden ebenfalls in Zusammenhang mit dem Auftreten und der Prognose des Malignen Melanoms gebracht (Hutchinson et al., 2002; Gandini et al., 2008).

Han et al., 2007 fand einen Zusammenhang zwischen VDR-Polymorphismen und Vitamin D-Einnahme bei Plattenepithelkarzinomen. Frauen mit den VDR-Genotypen Fok1 ff und Bsm1 BB, die über eine häufige Vitamin D-Einnahme berichteten, hatten ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten von Plattenepithelkarzinomen (Bsm1 BB-Genotyp: OR= 2.38, KI [1.22, 4.62]; Fok1 ff-Genotyp: OR= 2.46, KI [1.23-4.90]). In einer aktuellen Meta-Analyse (Gandini et al., 2008) war das VDR Fok1 f-Allel signifikant mit einem erhöhten Risiko für Hauttumoren einschließlich dem Malignen Melanom und epithelialen Hautumoren assoziiert. Das VDR Bsm1 B-Allel korrelierte statistisch signifikant mit einem erniedrigten

2.4.9. Bedeutung von Vitamin D und VDR-Polymorphismen für die Entstehung von Hautkrebs

Hautkrebs ist die häufigste Neoplasie in der kaukasischen Bevölkerung. Der am häufigsten vorkommende Hautkrebs ist das Basalzellkarzinom gefolgt vom Plattenepithelkarzinom und Malignen Melanom. Ultraviolette Strahlung (UVR) hat auf die Haut einen karzinogenen Einfluss und wird als wichtiger Risikofaktor für die Entstehung von epithelialen Hauttumoren (English et al., 1997; Ravanat et al., 2001) und dem Malignen Melanom (Gandini et al., 2005; Boscoe et al., 2006) angesehen. Einige Studien belegen, dass eine gemäßigte Sonnenexposition und die dadurch bedingten hohen 25(OH)D₃-Serumspiegel beim Malignen Melanom mit einem geringeren Risiko für dessen Auftreten, einer relativ günstigen Prognose und höheren Überlebensraten einhergeht (Rosso et al., 2008; Boniol et al., 2006; Berwick et al., 2005).

Diese widersprüchlichen Aussagen verdeutlichen das delikate Gleichgewicht zwischen protektivem und schädigendem Einfluss von UV-Licht (Berwick et al., 2005).

Trotz der schädigenden Wirkung der UVR, gilt der schützende Einfluss von Vitamin D vor Hautkrebs als erwiesen. Sonnenstrahlung führt zwar zu DNA-Schäden in der Haut, induziert jedoch auch die Bildung von Vitamin D in der Haut, dessen Metabolit 1,25(OH)₂D₃ sowohl in gesunden Hautzellen als auch in Hautkrebszellen die Zelldifferenzierung fördert und einer unkontrollierten Proliferation der Zellen entgegenwirkt.

Mehrere Studien erbrachten den Nachweis, dass der VDR sowohl in normalen Melanozyten als auch in malignen Melanozyten exprimiert wird, und dass sowohl das Wachstum der gesunden als auch der entarteten Melanozyten in vitro durch Zugabe von 1,25(OH)₂D₃ gehemmt werden kann (Ranson et al., 1988; Milde et al., 1991; Seifert et al., 2004; Nagpal et al., 2005; Oberyszyn et al., 2008). Des Weiteren induzierte 1,25(OH)₂D₃ die Apoptose von malignen Melanozyten in vitro und hemmte die Metastasierung von malignen Melanozyten (Evans et al., 1996; Danielsson et al., 1998).

Untersuchungen an Patienten mit Malignem Melanom bestätigten, dass diese Patientengruppe auffällig niedrige 1,25(OH)₂D₃ Serumspiegel aufwiesen und dies mit einer verstärkten Tumorprogression einhergehen könnte (Nürnberg et al., 2008; Newton et al., 2006). Andere Forschergruppen fanden einen Zusammenhang zwischen VDR-Polymorphismen und dem Breslow Index (Hutchinson et al., 2000; Santonocito et al., 2007). Um die Bedeutung des VDR am Wirkmechanismus des 1,25(OH)₂D₃ hervorzuheben, implantierte man immunsupprimierten Mäusen VDR-exprimierende menschliche Zellen eines Malignen

abwesend, wohingegen sich bei dem BAt-Allel die Schnittstellenverteilung genau gegensätzlich verhält. Des Weiteren wurde über eine zusätzliche genetische Verbindung zwischen dem oben genannten Haplotyp baT dem langen poly(A) Arm (L-Allel) berichtet. Der Haplotyp BAt steht in Verbindung mit dem kurzen Poly(A) Arm (S-Allel) des VDR-Gens (Morrison et al., 1994; Durrin et al., 1999; Uitterlinden et al., 1996).

Weitere Autoren führen eine starke Verbindung zwischen dem Taq1-Einzelnukleotidpolymorphismus und dem Poly(A)-Polymorphismus an (Kiebel et al., 1998; Blazer et al., 2000), wobei Kaukasier nachweislich ein stärkeres LD aufweisen als dunkelhäutige Menschen (Blazer et al., 2000; $p > 0,0001$).

2.4.8. Häufigkeiten der VDR-Polymorphismen in verschiedenen Bevölkerungsgruppen

Mehrere große Studien berichten über Abweichungen in der VDR-Polymorphismusverteilung in verschiedenen Bevölkerungsgruppen (Zmuda et al., 2000; Uitterlinden et al., 2004; Fang et al., 2003).

Das Nichtvorhandensein der Schnittstelle für das Apa1-Restriktionsenzym (A-Allel) wurde in der asiatischen Bevölkerung mit 74% als häufig auftretend beschrieben, wohingegen der Anteil in der kaukasischen Bevölkerung bei 41% und in der afrikanischen Bevölkerung bei 31% lag. Der Anteil für das Nichtvorhandensein der Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym lag in der kaukasischen Bevölkerung bei 43%, in der asiatischen Bevölkerung bei 8% und in der afrikanischen Bevölkerung bei 31%. Über den vor Kurzem erstmals beschriebenen VDR-Polymorphismus Bgl1, der ebenfalls in die vorliegende Dissertation eingeht, liegen derzeit noch keine Daten zu seiner Vorkommenshäufigkeit in den verschiedenen Bevölkerungen vor (John et al., 2007).

In der kaukasischen Bevölkerung wurde ein gehäuftes Vorkommen des Haplotypen 2 (BAt), in der asiatischen Bevölkerung des Haplotypen 1 (baT) festgestellt.

Trotz der unterschiedlichen Verteilung der VDR-Polymorphismen in den Bevölkerungsgruppen geht man davon aus, dass ein bestimmter Polymorphismus in jedem Individuum dieselbe Funktion erfüllt. Diese Annahme liegt vor allem in der Tatsache begründet, dass das endokrine Vitamin-D-System in allen Bevölkerungsgruppen die gleiche Funktion erfüllt.

Erschwerend für die Analyse der tatsächlichen Auswirkung des untersuchten Polymorphismus auf die Inzidenz und den Verlauf einer bestimmten Neoplasie ist die Tatsache, dass zahlreiche Studien von einem Zusammenhang nur im Beisein anderer Risikofaktoren wie UV-Bestrahlung (John et al., 2007; John et al., 2005), oraler Vitamin D- und Kalziumaufnahme (McCullogh et al., 2007) und dem 25(OH)D₃ Serumspiegel (Lowe et al., 2005) berichten.

2.4.7. Linkage disequilibrium

Ein weiterer wichtiger Begriff im Zusammenhang mit VDR-Polymorphismen ist der des „Linkage disequilibriums“ (LD). Das LD beschreibt die gemeinsame Vererbung von nah aneinander liegenden Polymorphismen auf demselben Allel (Wall and Pritchard, 2003).

Dies ermöglicht bei Anwesenheit eines bestimmten Polymorphismus eine Vorhersage über die Präsenz eines anderen, mit diesem verbundenen Polymorphismus, da in der Evolution nur eine sehr geringgradige Rekombination zwischen diesen beiden Polymorphismen aufgetreten ist. Eine hohe Anzahl von LDs in einem Genlocus geht somit mit einer nur begrenzten Anzahl von Haplotypen einher.

Ein Haplotyp kann in diesem Fall definiert werden als Nukleotidsequenzbereich mit aneinander grenzenden Polymorphismen, die als gemeinsamer Block weitervererbt werden (Gabriel et al., 2002; Uitterlinden et al., 2004).

Die Größe dieses Blocks kann zwischen 5 und > 50 kb variieren, wobei die Durchschnittsgröße bei 10-20 kb liegt (Gabriel et al., 2002; Wall and Pritchard, 2003; Uitterlinden et al., 2004; The International HapMap Consortium, 2003).

Die Haplotyp-Struktur des VDR-Gens ist ein wichtiger Parameter in der Untersuchung des Ausmaßes, in dem ein Polymorphismus Einfluss auf die Entstehung und den Verlauf einer Krankheit, beispielsweise einer Krebserkrankung, ausübt. Folglich wäre es möglich, aufgrund eines bestehenden LD eine nachgewiesene Assoziation zwischen einem bestimmten Polymorphismus und einem erhöhten Krebsrisiko ebenso einem anderen, benachbarten Polymorphismus zuzuschreiben.

Auf dem VDR-Gen wurde ein starkes LD auf dem 3'-er-Ende des Gens zwischen den Einzelnukleotidpolymorphismen BsmI, ApaI und TaqI beschrieben (Morisson et al., 1992; Morisson et al., 1994; Ingles et al., 1997; Durrin et al., 1999).

Die Haplotypen 1 (baT 48%) und 2 (BAa 40%) wurden als die beiden häufigsten Haplotypen beschrieben (Uitterlinden et al., 1996). In dem baT-Allel sind die Schnittstellen der Restriktionsenzyme BsmI und ApaI vorhanden, die Schnittstelle für das TaqI-Enzym jedoch

2.4.6. Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptors

Als Polymorphismen bezeichnet man Genvarianten, die mit einer Häufigkeit von mindestens einem Prozent in einer Population auftreten und funktionelle Auswirkungen haben können. Genvarianten, die mit weniger als einem Prozent in der Bevölkerung vertreten sind, werden dagegen als Mutation bezeichnet.

Bisher wurden mehr als 196 Polymorphismen in der Promoter-Region, in und um die Exons 2-9 und in der 3'-UTR'-Region des VDR nachgewiesen (Uitterlinden et al., 2004; Fang et al., 2005; <http://egp.gs.washington.edu/data/vdr/vdrxx.csnp.txt>), wobei einige davon einen Einfluss auf die Aktivität von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu haben scheinen (Haussler et al., 1997). Derzeit sind erst wenige dieser Polymorphismen genauer untersucht, wobei es sich größtenteils um Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP = single nukleotid Polymorphismen; RFLPs= restriction fragment length polymorphisms) mit noch unbekannter Funktion handelt. Des Weiteren kann man bisher nicht ausschließen, dass eine mögliche Erklärung für einige beobachtete Phänomene, wie beispielsweise der Tatsache, dass ein Großteil der entdeckten VDR Polymorphismen in „regulatory areas“ und nicht in kodierenden Exons entdeckt wurden, darin liegen könnte, dass der untersuchte Polymorphismus selbst funktionslos ist, jedoch mit anderen Polymorphismen auf dem VDR-Gen oder einem nahe gelegenen anderen Gen in Verbindung steht (Uitterlinden et al., 2004). Erste publizierte Studien über VDR-Polymorphismen deckten mögliche Zusammenhänge mit dem Knochenstoffwechsel, vor allem der Osteoporose auf (Gross et al., 1996; Minamitani et al., 1996; Uitterlinden et al., 2004). Neuere Publikationen berichten über einen wahrscheinlichen Einfluss bestimmter VDR-Polymorphismen auf die Inzidenz und den Verlauf bestimmter Autoimmunerkrankungen (Goldberg et al., 1986; Müller et al., 1996; Catorna et al., 2000; Adorini et al., 2002) sowie Krebserkrankungen (Haussler et al., 1998).

Näher betrachtet liegt die Mehrzahl der identifizierten Polymorphismen des VDR-Gens in regulatorisch wirksamen Abschnitten des Gens wie beispielsweise dem 5'-Promotor-Bereich und der 3'-UTR-Region (Fang et al., 2005).

Zu den häufig untersuchten Allelvarianten gehören ein das Startcodon verändernder Polymorphismus in Exon 2 (Fok1) (Gross et al., 1996; Sturzenbecker et al., 1994; Bernd et al., 2006), Polymorphismen im Intron 8, die die Schnittstelle für das Bsm1- und Apa1-Restriktionsenzym bilden (Faraco et al., 1989; Morrison et al., 1992), ein ähnlicher Polymorphismus im Exon 9 (Codon 352), welches die Schnittstelle für das Taq1-Restriktionsenzym bildet und eine PolyA-Region in dem 3'-Umgebungsbereich.

2.4.4. Bedeutung des Vitamin D für die Haut

Einige Studien belegten, dass in der Niere gebildetes 1,25-Dihydroxycholecalciferol im Serum in einer zu geringen Konzentration vorliegt um über den, durch die Keratinozyten exprimierten Vitamin D-Rezeptor wirken zu können (Matsumoto et al., 1991; Prystowsky et al., 1996). Man hat gezeigt, dass in Kultur gehaltene Keratinozyten zugefügtes 25(OH)D₃ zu 1,25(OH)₂D₃ metabolisieren können (Bikle et al., 1986) und somit Keratinozyten einen eigenen Vitamin D₃-Stoffwechsel besitzen (Lehmann et al., 2001; Lehmann et al., 2003). Dabei wird 25(OH)D₃ in die Keratinozyten aufgenommen und steht somit als Substrat für die CYP27B1 zur Verfügung.

Zahlreiche, sowohl in vitro als auch in vivo durchgeführte Studien wiesen eine Dosis-abhängige Wirkung von Vitamin D-Analoga auf die Proliferation und Differenzierung von Zellen nach. In niedrigen Konzentrationen förderte 1,25(OH)₂D₃ die Proliferation von Keratinozyten in vitro (Bollag et al., 1995; Itin et al., 1994; Gniadecki et al., 1996); hohe Dosierungen führten zu einer kompletten Hemmung der Proliferation (Bikle et al., 1991; Sebag et al., 1992; Gniadecki et al., 1996). Obwohl die genauen Mechanismen, die diesem biphasischen Effekt zugrunde liegen, bisher nicht vollständig geklärt sind geht man davon aus, dass der Vitamin D-Rezeptor dabei eine essentielle Rolle spielt (Holick et al., 1999).

2.4.5. Der Vitamin D-Rezeptor

Der Vitamin D-Rezeptor (VDR) zählt zur Superfamilie der nukleären Rezeptoren (NR 111; nuclear receptor subfamily 1, group I, member 1) (Moore et al., 2006). Es handelt sich um einen für 1,25(OH)₂D₃ hochaffinen Steroidrezeptor, der als Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor die Transkription bestimmter Zielgene aktiviert oder hemmt. Das aktive Vitamin D (1,25(OH)₂D₃) wird hundertmal stärker an VDR gebunden als 25 (OH)D₃ oder 24,25 (OH)₂D₃.

Der VDR wird durch ein über 100 Kilobasen langes Gen kodiert, das auf dem Chromosom 12q12-14 lokalisiert ist (Baker et al., 1988). Es besitzt eine große Promoter Region, die es ermöglicht verschiedene gewebespezifische Proteine herzustellen (Crofts et al., 1998).

Der VDR wurde in vielen Geweben nachgewiesen, darunter auch in gesunder Haut und epithelialen Hauttumoren (Stumpf et al., 1979; Smith et al., 1986; Baker et al., 1988; Milde et al., 1991; Reichrath et al., 2004).

2.4.3. Bedeutung von Vitamin D in der Krebsprävention

Eine große Anzahl an weltweiten Studien befasst sich mit der Rolle von Vitamin D in der Prävention von Krebserkrankungen. Schon 1941 beobachtete Aperlly, dass Menschen, die in sonnigeren Klimazonen leben, ein geringeres Krebsrisiko haben als Menschen in weniger sonnigen Klimazonen (Aperlly et al., 1941). Es zeigte sich, dass Frauen, die im sonnigen Südwesten der USA leben, ein um fünfzig Prozent erniedrigtes Risiko haben Brustkrebs zu entwickeln als Frauen im weniger sonnigen Nordosten (Garland et al., 1990). Auch weitere Autoren bestätigten, dass Sonnenexposition und Vitamin-D-reiche Ernährung das Brustkrebsrisiko signifikant senken (John et al., 1999). Nachweislich steht die Höhe des Risikos an Prostata-Krebs zu erkranken in direktem Zusammenhang mit der Sonnenexposition. Eine geringere Sonnenexposition resultiert in einem erhöhtem Prostata-Krebs-Risiko (OR= 3.3, KI: 1.59-5.78) und einem früherem Auftreten der Neoplasie (mittleres Lebensalter 67 Jahre vgl. mit 72 Jahren, $p=0.006$) (Luscombe et al., 2001).

Des Weiteren wurde beschrieben, dass durch eine längere Sonnenexposition das Brust- und Darmkrebsrisiko um 1/3 verringert werden kann (Ainsleigh HG, 1993). Das gleiche Ergebnis wurde bei einem 25(OH)D₃ Serumspiegel von $> 20\mu\text{g/l}$ erzielt, was den Zusammenhang mit Vitamin D bestätigte (Garland et al., 1989).

Eine Metaanalyse über den Zusammenhang zwischen Vitamin D und Darmkrebs fand heraus, dass ein hoher Vitamin-D-Serumspiegel mit einem signifikant erniedrigten Darmkrebsrisiko einhergeht (Gorham ED et al., 2007) wobei Studien, die allein mit der Nahrung aufgenommenes Vitamin D berücksichtigten, zum Teil widersprüchliche Ergebnisse lieferten (Grant et al., 2004). Aktuelle Studien bestätigen, dass hohe Vitamin- D- Serumspiegel aufgrund einer Hemmung der Zellproliferation und Förderung der Zelldifferenzierung durch aktives Vitamin D protektiv gegen Krebserkrankungen wirken (Deep et al., 2007).

Weitere Studien betonten die Bedeutung des Sonnenlichts in der Krebsvorsorge, indem sie in sonnenreichen Gegenden eine Risikosenkung für Brust-, Eierstock-, Darm-, Prostata-, Blasen, Gebärmutter-, Speiseröhren-, Rektum-, Pankreas- und Magenkrebs sowie Non-Hodgkin Lymphom nachwiesen (Grant WB et al., 2002; Grant WB et al., 2003).

2.4.2. Bedeutung von Vitamin D in der Entstehung und Prävention von multiplen Erkrankungen

Vitamin D-Mangel führt zu einer gestörten Mineralisation der Knochen und äußert sich bei Kindern durch Knochenerweichung, Wachstumsstörungen mit Deformitäten, Muskelschwäche und Tetanie. Im Erwachsenenalter führt Vitamin D-Mangel zur Osteomalzie, einer Erweichung der Knochen, die oft mit pathologischen Frakturen einhergeht. Die Symptome des Vitamin D-Mangels wurden in der Geschichte erstmals durch den englischen Arzt Daniel Whistler im Jahre 1645 unter dem Krankheitsbild der Rachitis zusammengefasst (Hess et al., 1929). Die Suche nach einem Heilmittel für Rachitis führte zur Entdeckung des Vitamin D (Rajakumar et al., 2003).

In den frühen achtziger Jahren entdeckte der japanische Forscher Tatsuo Suda, dass sich unreife krebsartige Leukämiezellen nach Gabe des Hormons differenzierten, reiften und aufhörten zu wachsen (Suda et al., 1984). Zusätzlich fand eine Gruppe von Forschern unter der Leitung von S.C. Manolagas heraus, dass Vitamin D einen entscheidenden Einfluss auf das Immunsystems zu haben scheint (Manolagas et al., 1987). Diese Erkenntnis wurde 1993 durch S. Yang und andere Forscher in DeLucas Laboratorium bestätigt, indem sie eine immunsuppressive Wirkung von Vitamin D bei Ratten nachwiesen (Yang et al., 2003). In den 90er-Jahren wurde anhand einer Studie an Prostata-Zellen gezeigt, dass die aktive Form des Vitamin D auch extrarenal gebildet wird und viele Körperzellen ihren eigenen Enzymmechanismus besitzen, um 25(OH)D₃ in aktives Vitamin D (1,25(OH)₂D₃) zu konvertieren (Schwartz et al., 1998).

In vielen verschiedenen Geweben übt das aktive, lokal gebildete Vitamin D autokrine Funktionen aus. Diese umfassen die Zelldifferenzierung, die Hemmung der Zellproliferation, die Apoptose, die Immunmodulation sowie die Kontrolle anderer hormonaler Systeme (Colston et al., 2002; Banerjee et al., 2003; Ordonez-Moran et al., 2005). Nach bisherigen Untersuchungen ist eine Unterversorgung mit Vitamin D ein Risikofaktor für viele verschiedene Krankheiten. Dazu zählen Autoimmunerkrankungen wie zum Beispiel Multiple Sklerose (Goldberg et al., 1986; Hayes et al., 1997), Diabetes mellitus Typ 1 (Hyppönen et al., 2001), Morbus Crohn, Systemischer Lupus erythematodes (Adorini et al., 2002; Thomasset et al., 1994; Müller et al., 1996) und rheumatoide Arthritis (Hein et al., 2000). Des Weiteren wurde ein niedriger Vitamin D-Spiegel im Blut mit arterieller Hypertonie (Rostand et al., 1979), Koronarer Herzerkrankung (Scragg et al., 1990; Zittennan et al., 2003) und Infektionskrankheiten wie Tuberkulose in Verbindung gebracht.

2.4. Struktur und Bedeutung von Vitamin D

2.4.1. Struktur

Vitamin D₃ ist das physiologisch im Körper vorkommende Vitamin D. Der historische Begriff „Vitamin“ ist dabei nicht vollständig zutreffend. Definitionsgemäß sind Vitamine organische Verbindungen, die der Organismus nicht als Energieträger sondern für lebenswichtige Funktionen benötigt. Diese können nicht vom Körper synthetisiert werden und müssen deshalb mit der Nahrung, zum Teil als Vorstufe (Provitamin), aufgenommen werden. Vitamin D ist der Oberbegriff für eine Gruppe lipophiler Verbindungen, die sich von Cholesterin ableiten und ein konjugiertes Triensystem enthalten.

Die mit der Nahrung aufgenommenen, aber auch körpereigenen D Vitamine sind Vorstufen der aktiven Form des Vitamin D, dem 1,25-Dihydroxycholecalciferols (1,25-Dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃). Zu den Vorstufen gehören Cholecalciferol (Calcidiol) und 25-Hydroxycholecalciferol (Calcidiol).

In der Leber wird aus Cholesterin das 7-Dehydrocholesterol (Provitamin D₃, 7-DHC) synthetisiert, das anschließend in der Haut durch Spaltung eines Kohlenwasserstoffrings zu Cholecalciferol transformiert wird (Holick et al., 1980). Dieser Prozess ist eine UVB-induzierte photochemische Reaktion mit einer maximalen Spektrumwirksamkeit bei 297 nm. Das so entstandene Cholecalciferol wird im Blut nach Bindung an Carrierproteine, vor allem an DBP (Vitamin D-binding protein), zur Leber transportiert, wo es durch Hydroxylierung an Position C₂₅ zu 25-Hydroxycholecalciferol umgewandelt wird. 25-Hydroxycholecalciferol wird, an DBP gebunden, weiter zur Niere und anderen Geweben transportiert und dort an der C_{1α}-Position zu dem physiologisch wirksamen 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)₂D₃; Calcitriol) hydroxyliert. Dieser letzte Schritt erfolgt durch die Aktivierung der 25-Hydroxyvitamin D-1α-Hydroxylase (CYP27B1) unter Einfluss von Parathormon (PTH). Calcitriol wirkt zum Teil direkt an der Niere, wird jedoch auch, an DBP gebunden, zu Geweben transportiert, die ebenfalls den Vitamin D-Rezeptor (VDR) besitzen. Zu diesen Geweben zählen vor allem die Knochen, der Gastrointestinaltrakt und die Nebenschilddrüse. Die intrazelluläre Verstoffwechslung des Calcitriols beginnt mit der enzymkatalysierten Hydroxylierung an Position C₂₄ durch die Vitamin D-24OHase (CYP24A1).

Der Differenzierungsgrad von Plattenepithelkarzinomen wird nach Broders (Broders et al., 1920) in 4 Grade eingeteilt, wobei die Gradeinteilung von dem Anteil undifferenzierter Tumorzellen abhängt (Anteil undifferenzierter Tumorzellen bei Grad I <25%, bei Grad II <50%, bei Grad III < 75%, bei Grad IV > 75%). Der Differenzierungsgrad ist prognostisch von Bedeutung. Ein hoher Differenzierungsgrad geht mit starker Verhornungsneigung einher, während histologisch undifferenzierte Tumorzellen gehäuft Atypien, Hyperplasien und Hyperchromasien sowie atypische Mitosen aufweisen. Desmoplasien stellen dabei einen hoch signifikanten ($p < 0,001$) prognostischen Faktor für Plattenepithelkarzinome dar und gehen mit einer erhöhten Metastasierungs- und Rezidivrate einher (Breuninger et al., 1997). Zusätzlich hängt die Prognose wesentlich von der Tiefenausdehnung des Karzinoms ab, die durch die Tumordicke in Millimeter angegeben wird, dem Einbrechen des Tumors in lymphozytäre und vaskuläre Strukturen, der Lokalisation, den vorausgegangenen Risikofaktoren und Behandlungsversuchen sowie einer bestehenden Immunsuppression bei dem Patienten (Rowe et al., 1992; Peter et al., 1999; Khanna et al., 2003).

Je undifferenzierter das histopathologische Bild des Tumors und je größer die Eindringtiefe, desto schlechter die Prognose (Khanna et al., 2003). Therapeutisch steht an erster Stelle die radikale operative Entfernung des Tumors im Gesunden. Das Risiko, nach der OP ein Lokalrezidiv zu entwickeln, ist dabei geringer als bei Basalzellkarzinomen. Des Weiteren kommen Kryotherapie und im Falle der Inoperabilität primäre ionisierende Strahlentherapie oder systemische Chemotherapie zur Anwendung (Braun-Falco et al., 2003).

In den letzten Jahren kam es zu einer deutlichen Zunahme der Bedeutung von Vitamin-D-Metaboliten für die Therapie und Prävention verschiedener Erkrankungen, einschließlich des Plattenepithelkarzinoms. Eine in 2004 veröffentlichte Studie (Reichrath et al., 2004) untersuchte das Vitamin-D-System in Plattenepithelkarzinomen ($n=15$ SCC, $n=5$ Kontrollen) mit der Hauptfragestellung nach einer möglichen Prävention- und Therapieoption von Plattenepithelkarzinomen durch Vitamin-D-Analoga. Dabei zeigte sich eine dosisabhängige Hemmung der Zellproliferation durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in vitro. In einer früheren Studie (Welsh et al., 1994) wurde ein Zusammenhang zwischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und einer erhöhten Apoptoserate in Mamma-Ca Zellen beschrieben. Obwohl dieser Zusammenhang für Plattenepithelkarzinomzellen nicht bestätigt werden konnte (Reichrath et al., 2004), werden Plattenepithelkarzinome als potentielle Zielstrukturen einer Therapie mit Vitamin-D-Analoga angesehen.

krankheitsinduzierte Immunsuppression, Genodermatosen (Xeroderma pigmentosum, Albinismus), humane Papillomaviren (Typ 5, 16 und 18), chronische Wunden, langbestehende Narben und chronische Dermatosen wie beispielsweise Lupus erythematoses und Lichen ruber. Plattenepithelkarzinome, die auf chronisch vorbestehenden Dermatosen oder in vorbestehenden chronischen Wunden und Narben entstehen, zeigen deutlich aggressivere Verläufe mit erhöhter Metastatisierungstendenz (Kerl et al., 2003). Die Entstehung der Plattenepithelkarzinome beruht auf einer Multistrittcarzinogenese, wobei Mutationen im Tumorsuppressorgen p53 UV-typische Veränderungen sind und bei 60-75% der Plattenepithelkarzinome nachweisbar sind. Mutationen im p53-Gen führen dazu, dass DNA Schäden nicht mehr im ausreichenden Maße eliminiert werden können. Sie stellen eher frühe Ereignisse in der Karzinogenese dar und sind alleine für eine maligne Transformation nicht ausreichend. Weitere relevante Onkogene sind Onkogene der ras-Superfamilie, die auf Proliferation, Differenzierung und Zellmetabolisierung Einfluss ausüben und dadurch bei Mutationen zu einem unkontrollierten Zellwachstum führen können sowie das bcl2-Gen, das als Apoptosehemmer dient (Kerl et al., 2003).

Klinisch entwickeln sich Plattenepithelkarzinome als wenig auffällige, fest und breit aufsitzende, keratotische, wenig erhabene Plaques, die mit zunehmender Entzündungsreaktion in der Umgebung in einen exo- und endophytisch wachsenden Tumor übergehen. Die Tumoren sind meist nicht schmerzhaft, jedoch leicht verletzlich und zum Teil knotig oder ulzeriert. Spinaliome entstehen vor allem in Bereichen sonnenexponierter Haut (Gesicht, Stirn) und im Bereich der Schleimhäute und Übergangsschleimhäute (Lippen-, Zungen-, Penis-, Vulva- und Analkarzinome) (Krickler et al., 1994). Histopathologisch sind Spinaliomzellen große, plasmareiche, den Keratinozyten des Stratum spinosum ähnelnde Zellen. Sie wachsen von den unteren Epidermisschichten aus in Tumorzapfen in die Dermis vor, wobei sie die Basalmembranzone durchbrechen. Im Bereich des Tumors zeigen sich konzentrisch angeordnete Keratinozyten mit einer parakeratotischen Keratinisationszone im Zentrum, den sogenannten Hornperlen. Zusätzlich ist das Plattenepithelkarzinom meist von einem lymphoidzelligem Infiltrat umgeben, das jedoch nicht den Tumor infiltriert und diesen scharf abgegrenzt erscheinen lässt. Die typische Schichtung der Keratinozyten ist nicht mehr nachweisbar und je nach Differenzierungsgrad zeigen sich vermehrt Kern- und Zellpleomorphien wobei Interzellularbrücken fehlen können (Kane et al., 2004; Kerl et al., 2003). Es sind mehrere Varianten von Plattenepithelkarzinomen bekannt, darunter das akantolytische Plattenepithelkarzinom, das desmoplastische Plattenepithelkarzinom, der Morbus Bowen und das Keratoakanthom (Johnson et al., 1992; Kane et al., 2004).

Ansprechen der Tumorzellen auf Steroidhormone (Retinoide, Calcitriol) sich direkt proportional zu der Zahl an zugehörigen Rezeptoren verhält (Costa et al., 1987). In Basalzellkarzinomen wurde eine starke VDR-Expression nachgewiesen, die gleichermaßen bei verschiedenen untersuchten Basalzellkarzinomformen (noduläres Basaliom, superfiziell spreitendes Basaliom) auftrat (Mitschele et al., 2004; Reichrath et al., 1999). Frühere Studien zeigten eine Modifikation der VDR-Expression in Keratinozyten und anderen Zellen durch Zytokine in vitro (Reichrath et al., 1991; Krishnan et al., 1995). Man vermutete, dass es in Basaliomen durch freigesetzte Zytokine aus Entzündungszellen des umgebenden Stromas zu einer Hochregulierung der VDR-Expression kommen könnte (Mitschele et al., 2004). Eine 2004 veröffentlichte Studie wies in Basalzellkarzinomen eine Überexpression von mRNA der 24-OHase nach (Mitschele et al., 2004), wobei bereits in Mamma-Ca Zelllinien der 24-OHase ein onkogenes Potential zugeschrieben wurde (Albertson et al., 2000). Forscher sehen in einer pharmakologischen Hemmung der 24-OHase mit einer dadurch gesteigerten Sensitivität gegenüber Vitamin D Analoga einen vielversprechender Therapieansatz (Mitschele et al., 2004).

2.3. Das Plattenepithelkarzinom der Haut

Das Plattenepithelkarzinom (auch Spinaliom, Spinozelluläres Karzinom, Stachelzellkarzinom, Epithelioma spinocellulare) ist neben dem Basalzellkarzinom der zweithäufigste maligne Tumor der Haut mit einer Inzidenz in Europa von 25-30 Neuerkrankungen je 100.000 Einwohner pro Jahr (Kerl et al., 2003). Definitionsgemäß handelt es sich um einen Tumor epidermalen Ursprungs, der in seiner intraepithelialen Form einem Carcinoma in situ entspricht und der, in einem sehr variablen Zeitraum von Wochen bis Jahren in die invasive Form mit den Charakteristika eines malignen Tumors übergeht (Broders et al., 1921). Er weist ein lokal destruierendes Wachstum auf und kann durch lymphogene und hämatogene Metastasierung zu einem letalen Ausgang führen (Broders et al., 1921)

Plattenepithelkarzinome treten meist im höheren Lebensalter, vor allem im siebten bis achten Lebensjahrzehnt, auf und betreffen besonders wenig pigmentierte, hellhäutige Menschen (Hauttypen I und II nach Fitzpatrick et al., 1988; De Gruijl et al., 1999). Männer erkranken 2-5mal häufiger als Frauen, was größtenteils auf eine erhöhte Exposition gegenüber kanzerogenen Noxen (Teer, Mineralöle, Polyzyklische Aromaten, Arsen, Röntgenbestrahlung, UV-Licht, mäßige Hitzeexposition) zurückzuführen ist (De Gruijl et al., 1999; Braun-Falco et al., 2003). Weitere prädisponierende Faktoren sind Zytostatika- oder

sonnenlichtexponierten Arealen der Haut (Lichtterrassen). Es ist zu >80% in den oberen 2/3 des Gesichtes lokalisiert (Miller, 1991) und betrifft vor allem Menschen mit sonnenempfindlicher Haut (Hauttypen I und II; Fitzpatrick et al., 1988). In seltenen Fällen kann es auch im Rahmen genetischer Krankheiten wie dem Gorlin-Goltz-Syndroms (Basalzellnävussyndroms; 1960; Mutation in PATCHED-Gen; Chromosom 9; autosomal dominant vererbt) (Ingrid Moll, Duale Reihe, 2005), dem Basex Syndroms (follikuläres Atrophoderm; 1964; X-chromosomal dominant vererbt) (Yung and Newton-Bishop, 2005) sowie der Xeroderma pigmentosum (Autosomal rezessiv vererbter Defekt des DNA-Reparatursystems; Endonukleasemangel) (Altmeyer et al., 2003) auftreten.

Initial imponieren Basaliome als stecknadelkopfgrosse, hautfarbene, derbe Knötchen (Basaliomperlen) oder als hautfarbene Induration mit perlartigem Randwall und Teleangiektasien. Immunhistologisch findet man in diesem Stadium bereits eine Zytokeratinausstattung, die Basaliomzellen von epidermalen Keratinozyten oder Plattenepithelkarzinomzellen unterscheidet (Moll et al., 1982; Lavrijsen et al., 1989).

Die Wachstumstendenz der Basaliome ist sehr langsam, sowohl das horizontale als auch das vertikale Wachstum betreffend. Kerr und Seargel (1972) bezeichneten das Wachstum der Basaliome als „paradoxically slow growth rate“.

Eine mögliche Erklärung für das langsame Wachstum von Basalzellkarzinomen könnte darin begründet liegen, dass Basaliome im Vergleich zu Malignen Melanomen bei gleichem Mitoseindex einen deutlich höheren Apoptoseindex haben (Mooney et al., 1995). Darüber hinaus berichten Studien, dass das Ausmaß der VDR-Expression ebenfalls das Wachstumsverhalten der Basalzellkarzinome beeinflusst (Mitschele et al., 2004).

Klinisch unterscheidet man verschiedene Formen. Dazu zählen das solide, das zystische, das sklerodermiforme, das superfizielle, das pigmentierte und das multizentrische Basalzellkarzinom. Häufig finden sich innerhalb eines Basalioms Übergänge zwischen diesen Wachstumsformen. Aus Transplantationsversuchen ging hervor, dass Basaliome nur bei vorhandenem Stroma proliferationsfähig sind (Miller et al., 1991a). Dieser enge Zusammenhang zwischen dem epithelalem Parenchym und ihrem tumorspezifischen Stroma wird als mögliche Ursache der fehlenden Metastasierungsfähigkeit des Basalioms diskutiert (Miller et al., 1991b)

Therapeutisch stellt die Exzision im Gesunden mit histologischer Schnittrandkontrolle die Therapie der ersten Wahl dar. In der Literatur wird eine erfolgreiche Behandlung von Hauttumoren, einschließlich des Basalzellkarzinoms, durch eine Kombinationstherapie mit 1,25(OH)2D3 und Isotretinoin berichtet (Majewski et al., 1994). Es ist bekannt, dass das

2. EINLEITUNG

2.1. Fragestellung der Dissertation

Aus der Literatur ist eine Vielzahl von Studien bekannt, die signifikante Zusammenhänge zwischen bestimmten VDR-Polymorphismen und der Entstehung von Tumoren nachweisen konnten. Bisher wurde jedoch nur in sehr wenigen Studien der Einfluss der VDR-Polymorphismen auf die Entstehung von Hauttumoren untersucht. Es ist keine Studie bekannt, die die Kombination der VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 in Hinblick auf Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen untersuchte. In dieser Arbeit sollten erstmals folgende Fragen beantwortet werden:

1. Besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen den untersuchten VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen?
2. Korrelieren die untersuchten VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) mit weiteren Risikofaktoren (Alter, Geschlecht) in Bezug auf das Auftreten von Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen?
3. Haben die untersuchten VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) einen signifikanten Einfluss auf die Lokalisation der aufgetreten epithelialen Hauttumoren?

2.2. Das Basalzellkarzinom

Das von Krompecher 1900 erstmals beschriebene Basalzellkarzinom (auch: Basaliom, Epithelioma basocellular) stellt den häufigsten malignen Tumor der hellhäutigen Rasse dar (Miller et al., 1991). Es handelt sich um einen, von den basalen Zellschichten der Epidermis und der Follikel ausgehender Tumor, der invasiv und destruierend wächst, jedoch fast nie metastasiert (Miller et al., 1991). Er wird daher als semimaligner Tumor bezeichnet.

Das Basaliom ist vor allem ein Tumor des älteren Menschen und hat einen Häufigkeitsgipfel um das 65. Lebensjahr. Als wichtiger ätiologischer Faktor für die Entstehung eines Basalioms ist die aktinische Belastung in Form einer chronisch rezidivierenden UV Exposition anzusehen (Ingrid Moll, Duale Reihe, 2005). Zusätzlich wird dem Hedgehog Signalweg eine entscheidende Rolle in der Karzinogenese des Basalioms zugesprochen (Bale et al., 2001; Lacour et al., 2002). Die bevorzugte Lokalisation des Basalioms befindet sich in chronisch

1.2. Summary

Genetic variants of the vitamin D receptor (VDR) in cutaneous squamous cell carcinomas (SCC) and basal cell carcinomas (BCC)

Vitamin D deficiency is associated with various types of cancer, and 1,25(OH)₂D₃, the active vitamin D metabolite, has been shown to have antiproliferative and pro-differentiative effects in many cell populations including skin keratinocytes. Functional polymorphisms along the 105 kilobase vitamin D receptor (VDR) may have important implications for successful chemoprevention or response to therapy as the VDR mediates most actions of 1,25(OH)₂D₃. Consequently, it has been shown that VDR polymorphisms are associated with various types of cancer.

In the present dissertation, a gene sequencing approach was used to analyse the presence of several VDR polymorphisms (Apa1, Taq1, Bgl1) in basal cell carcinomas (BCC, n=73) and cutaneous squamous cell carcinomas (SCC, n= 75) as compared to healthy controls (n=51). Moreover, other factors such as tumour localisation, gender and age were examined to test the hypothesis that VDR polymorphisms were associated with skin cancer by interacting with these factors. No statistically significant variations were observed in the distribution of the VDR polymorphisms in the tumour groups compared to the healthy controls although there was an obvious trend for several VDR polymorphisms to be more frequent in basal cell carcinomas or cutaneous squamous cell carcinomas with changes being in general more pronounced in basal cell carcinomas as compared to cutaneous squamous cell carcinomas (Apa1 Aa genotype: 53,4% in BCC, 50,7% in SCC, 45,1% in healthy controls; Taq1 Tt genotype: 59,2% in BCC, 43,9% in SCC, 48,0% in healthy controls; Bgl1 Bb genotype: 54,5% in BCC, 50,0% in SCC, 43,1%). The male gender was significantly associated with higher tumour risk. This association did not vary with VDR genotype. In conclusion, the analysed VDR polymorphisms may be of importance in the development of basal cell carcinomas and cutaneous squamous cell carcinomas but further exploration of these findings and their implications is required.

1. ZUSAMMENFASSUNG

1.1. Zusammenfassung

Vitamin-D-Mangel wird als Risikofaktor mit dem Auftreten verschiedener Krebsarten in Verbindung gebracht. Es ist bekannt, dass der aktive Vitamin-D-Metabolit (1,25(OH)₂D₃) antiproliferativ und fördernd auf die Zelldifferenzierung vieler Zellpopulationen, darunter Keratinozyten wirkt. Die Stoffwechseleffekte des 1,25(OH)₂D₃ werden über den nukleären Vitamin-D-Rezeptor (VDR) vermittelt, dessen Gen 105 Kilobasen umfasst. Neben Vitamin-D-Mangel wurden auch bestimmte VDR Polymorphismen mit einem gehäuften Auftreten von Neoplasien in Verbindung gebracht. Ziel dieser Arbeit ist es die Bedeutung von genetischen Varianten des Vitamin D Rezeptors für das Auftreten von kutanen Plattenepithelkarzinomen und Basalzellkarzinomen zu untersuchen. Dazu wurden durch Gensequenzierung mehrere VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) in Basalzellkarzinomen (BCC, n=73) und Plattenepithelkarzinomen (SCC, n=75) analysiert und mit gesunden Kontrollen verglichen (n=51). Darüber hinaus wurden weitere Faktoren wie Tumorlokalisierung, Geschlecht und Alter der Tumorpatienten untersucht. Dabei zeichnete sich ein deutlicher, jedoch nicht statistisch signifikanter Trend ab, dass bestimmte Haplotypen des VDR-Gens (BCC: Apa1 Aa; Taq1 Tt; Bgl1 Bb; PECA: Apa1 Aa; Taq1 tt; Bgl1 Bb) häufiger in Basalzellkarzinomen oder Plattenepithelkarzinomen auftraten, wobei dieser Trend in Basalzellkarzinomen stärker hervortrat (BCC vs Kontrolle: Apa1 Aa: 53,4% vs 45,1%; Taq1 Tt: 59,2% vs 48%; Bgl1 Bb: 54,5% vs 43,1%; PECA vs Kontrollgruppe: Apa1 Aa: 50,7% vs 45,1%; Taq1 tt: 22,0% vs 14,0%; Bgl1 Bb: 50,0% vs 43,1%)(siehe Tabellen 6-8). Darüber hinaus hatten Männer unabhängig vom VDR-Genotyp ein statistisch signifikant erhöhtes Tumorrisiko im Vergleich zu Frauen. Zusammenfassend weist das tendenziell gehäufte Vorkommen der oben genannten VDR Polymorphismen auf einen Zusammenhang zwischen den untersuchten VDR Polymorphismen und dem Auftreten von Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen hin, wobei dieser Zusammenhang in der vorliegenden Studie statistisch nicht signifikant war.

II. Abkürzungsverzeichnis

BCC	Basalzellkarzinom
PECA	Plattenepithelkarzinom
DBP	Vitamin D-binding protein
VDR	Vitamin D-Rezeptor
PBS	Phosphate buffered Saline
DNA	Desoxyribonucleinsäure
bp	Basenpaare
RFLP	restriktion fragment length polymorphism
rpm	rotation per minute
Kb	Kilobasen
PTH	Parathormon
MED	Mittlere Erythemdosis
1 α -OHase	25-Hydroxyvitamin D-1 α -Hydroxylase
1,25(OH) ₂ D ₃	1, 25-Dihydroxyvitamin D ₃ (Calcitriol)
24OHase	1, 25-Dihydroxyvitamin D-24 Hydroxylase
25OHase	Vitamin D-25 Hydroxylase

männlichem Geschlecht

Tabelle 36	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Apa1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren	Seite 70
Tabelle 37	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Taq1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren	Seite 71
Tabelle 38	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren	Seite 72
Tabelle 39	VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei Basalzellkarzinomen	Seite 73
Tabelle 40	VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei Plattenepithelkarzinomen	Seite 73
Tabelle 41	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Apa1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Basalzellkarzinomen	Seite 74
Tabelle 42	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Taq1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Basalzellkarzinomen	Seite 75
Tabelle 43	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Basalzellkarzinomen	Seite 75
Tabelle 44	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Apa1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 76
Tabelle 45	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Taq1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 76
Tabelle 46	Häufigkeit von VDR-Polymorphismus Bgl1 bei Patienten < versus \geq 60 Jahren mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 77

	Restriktionsenzym Apa1 (Apa1: aa+Aa) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 AA) aufweisen bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	
Tabelle 25	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1: tt+Tt) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 TT) aufweisen bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 61
Tabelle 26	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1: bb+Bb) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1 BB) aufweisen bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 62
Tabelle 27	Häufigkeiten der VDR-Genotypen Apa1, Taq1 und Bgl1 bei epithelialen Hauttumoren versus Kontrollgruppe	Seite 63
Tabelle 28	Häufigkeit des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 64
Tabelle 29	Häufigkeit des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 64
Tabelle 30	Häufigkeit des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 65
Tabelle 31	Häufigkeit des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 66
Tabelle 32	Häufigkeit des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 66
Tabelle 33	Häufigkeit des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 67
Tabelle 34	Häufigkeiten von Basalzellkarzinomen bei weiblichem versus männlichem Geschlecht	Seite 68
Tabelle 35	Häufigkeiten von Plattenepithelkarzinomen bei weiblichem versus	Seite 68

Tabelle 15	Häufigkeiten der homozygoten Apa1-Genotypen (aa+AA) und des heterozygoten Apa1-Genotyps (Aa) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 55
Tabelle 16	Häufigkeiten der homozygoten Taq1-Genotypen (tt+TT) und des heterozygoten Taq1-Genotyps (Tt) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 55
Tabelle 17	Häufigkeiten der homozygoten Bgl1-Genotypen (bb+BB) und des heterozygoten Bgl1-Genotyps (Bb) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 56
Tabelle 18	Häufigkeiten der homozygoten Apa1-Genotypen (aa+AA) und des heterozygoten Apa1-Genotyps (Aa) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 57
Tabelle 19	Häufigkeiten der homozygoten Taq1-Genotypen (tt+TT) und des heterozygoten Taq1-Genotyps (Tt) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 57
Tabelle 20	Häufigkeiten der homozygoten Bgl1-Genotypen (bb+BB) und des heterozygoten Bgl1-Genotyps (Bb) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 58
Tabelle 21	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1: aa+Aa) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Apa1 (Apa1 AA) aufweisen bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 59
Tabelle 22	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1: tt+Tt) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Taq1 (Taq1 TT) aufweisen bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 59
Tabelle 23	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1: bb+Bb) aufweisen und VDR-Genotypen, die keine Schnittstellen des Restriktionsenzym Bgl1 (Bgl1 BB) aufweisen bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 60
Tabelle 24	Häufigkeiten von VDR-Genotypen, die Schnittstellen des	Seite 61

I. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Spezifische Primer zur PCR der VDR-Polymorphismen Apa1, Taq1 und Bgl1 aus Blut und Gewebe	Seite 39
Tabelle 2	Testungsschema zur Bestimmung der optimalen Konzentrationsverhältnisse bei der Amplifikation und Sequenzierung	Seite 40
Tabelle 3	Häufigkeiten der Genotypen des Apa1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe	Seite 46
Tabelle 4	Häufigkeiten der Genotypen des Taq1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe	Seite 46
Tabelle 5	Häufigkeiten der Genotypen des Bgl1-Polymorphismus in der Kontrollgruppe	Seite 47
Tabelle 6	Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Polymorphismus Apa1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 49
Tabelle 7	Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Polymorphismus Taq1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 49
Tabelle 8	Häufigkeiten von Genotypen des VDR-Polymorphismus Bgl1 bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 50
Tabelle 9	Allelhäufigkeiten des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 51
Tabelle 10	Allelhäufigkeiten des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 51
Tabelle 11	Allelhäufigkeiten des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 52
Tabelle 12	Allelhäufigkeiten des Apa1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 53
Tabelle 13	Allelhäufigkeiten des Taq1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 53
Tabelle 14	Allelhäufigkeiten des Bgl1-VDR-Polymorphismus bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 53

5.2.3.	VDR Taq1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen der Haut	Seite 85
5.2.4.	Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Taq1-Polymorphismus	Seite 85
5.2.4.1.	Der VDR Taq1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen	Seite 85
5.2.4.2.	Der VDR Taq1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen	Seite 86
5.2.4.3.	Der VDR Taq1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 87
5.3.	Der VDR Bgl1-Polymorphismus	Seite 89
5.3.1.	Struktur und Funktionalität des VDR Bgl1-Polymorphismus	Seite 89
5.3.2.	VDR Bgl1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen	Seite 89
5.3.3.	Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Bgl1-Polymorphismus	Seite 90
5.3.3.1.	Der VDR Bgl1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen	Seite 90
5.3.3.2.	Der VDR Bgl1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen	Seite 91
5.3.3.3.	Der VDR Bgl1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 92
5.4.	VDR-Genotypen bei epithelialen Hauttumoren	Seite 93
5.5.	Einfluss von VDR-Polymorphismen auf die Lokalisation von epithelialen Hauttumoren	Seite 94
5.6.	Interaktionen zwischen Geschlecht und VDR-Polymorphismen als Risikofaktor für die Entstehung von epithelialen Hauttumoren	Seite 95
5.7.	Interaktionen zwischen VDR-Polymorphismen und dem Alter als Risikofaktor für die Entstehung von epithelialen Hauttumoren	Seite 96
6.	LITERATURVERZEICHNIS	Seite 98
7.	DANKSAGUNG	Seite 111
8.	PUBLIKATIONEN	Seite 112
9.	LEBENS LAUF	Seite 113
I.	Tabellenverzeichnis	Seite 8
II.	Abkürzungsverzeichnis	Seite 12

	chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	
4.8.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren	Seite 67
4.8.1.	Häufigkeiten von epithelialen Hauttumoren bei männlichen versus weiblichen Individuen	Seite 67
4.8.2.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei männlichen versus weiblichen Individuen mit epithelialen Hauttumoren	Seite 68
4.8.3.	VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) und Geschlecht bei epithelialen Hauttumoren	Seite 72
4.9.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahren mit epithelialen Hauttumoren	Seite 74
4.9.1.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahren mit Basalzellkarzinomen	Seite 74
4.9.2.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Patienten < versus >= 60 Jahren mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 75
5.	DISKUSSION	Seite 78
5.1.	Der VDR Apa1-Polymorphismus	Seite 78
5.1.1.	Lage und Funktionalität des VDR Apa1-Polymorphismus	Seite 78
5.1.2.	VDR Apa1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen	Seite 78
5.1.3.	VDR Apa1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen der Haut	Seite 79
5.1.4.	Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zum Apa1-Polymorphismus	Seite 79
5.1.4.1.	Der VDR Apa1-Polymorphismus bei tumorfreien Individuen	Seite 79
5.1.4.2.	Der VDR Apa1-Polymorphismus bei Individuen mit Basalzellkarzinomen	Seite 80
5.1.4.3.	Der VDR Apa1-Polymorphismus bei Individuen mit Plattenepithelkarzinomen	Seite 81
5.2.	Der VDR Taq1-Polymorphismus	Seite 83
5.2.1.	Struktur und Funktionalität des VDR Taq1-Polymorphismus	Seite 83
5.2.2.	VDR Taq1-Polymorphismus und maligne Tumorerkrankungen	Seite 84

	Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	
4.4.2.	Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei Plattenepithelkarzinomen und Kontrollgruppe	Seite 56
4.5.	Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei epithelialen Hauttumoren im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 58
4.5.1.	Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 58
4.5.2.	Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 59
4.5.3.	Häufigkeiten von VDR- Genotypen, die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 (Apa1 aa+Aa, Taq1 tt+Tt Bgl1 bb+Bb) aufweisen und Genotypen, die keine Schnittstellen der Restriktionsenzyme Apa1, Taq1 und Bgl1 aufweisen (Apa1 AA, Taq1 TT, Bgl1 BB) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 60
4.6.	Häufigkeiten der untersuchten VDR-Genotypen bei epithelialen Hauttumoren versus Kontrollgruppe	Seite 62
4.7.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei epithelialen Hauttumoren in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 63
4.7.1.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei Basalzellkarzinomen in chronisch sonnenexponierter versus nicht sonnenexponierter Haut	Seite 63
4.7.2.	Häufigkeiten von VDR-Polymorphismen bei Plattenepithelkarzinomen in	Seite 65

3.6.2.	Herstellung des Primermix	Seite 39
3.6.3.	Herstellung des Mastermix	Seite 40
3.6.4.	Agarosegelelektrophorese	Seite 41
3.6.5.	Exo-Ciap Behandlung	Seite 42
3.6.6.	DNA Sequenzierung	Seite 42
3.6.7.	Cephalexin-Aufreinigung	Seite 44
3.6.8.	Wiederholerproben	Seite 44
3.6.9.	Interpretation der Daten	Seite 45
3.7.	Auswertung der Daten	Seite 45
4.	ERGEBNISSE	Seite 46
4.1.	VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) in der Kontrollgruppe	Seite 46
4.2.	Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei epithelialen Hauttumoren (Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome) im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 47
4.2.1.	Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 47
4.2.2.	Häufigkeiten von Genotypen verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1; Taq1, Bgl1) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe.	Seite 48
4.3.	Allelhäufigkeiten verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei epithelialen Hauttumoren in Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 50
4.3.1.	Allelhäufigkeiten verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Basalzellkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 50
4.3.2.	Allelhäufigkeiten verschiedener VDR-Polymorphismen (Apa1, Taq1, Bgl1) bei Plattenepithelkarzinomen im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 52
4.4.	Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei epithelialen Hauttumoren im Vergleich zur Kontrollgruppe	Seite 54
4.4.1.	Häufigkeiten der homozygoten (Apa1 aa+AA; Taq1 TT+tt, Bgl1 bb+BB) und heterozygoten VDR-Genotypen (Apa1 Aa, Taq1 Tt, Bgl1 Bb) bei	Seite 54

3.1.2.	Blut gesunder Probanden	Seite 30
3.2.	Verwendete Lösungen	Seite 31
3.2.1.	DNA-Isolierung	Seite 31
3.2.2.	Färben der Schnitte	Seite 32
3.2.3.	Fällung der Blutproben	Seite 32
3.2.4.	Lymphozyten-Trennung	Seite 32
3.2.5.	Polymerase-Kettenreaktion	Seite 32
3.3.	Verwendete Materialien und Geräte	Seite 33
3.3.1.	Anfertigung der Schnitte	Seite 33
3.3.2.	DNA-Isolierung	Seite 33
3.3.3.	Vermessung der DNA-Proben	Seite 34
3.3.4.	Polymerase-Kettenreaktion	Seite 34
3.4.	DNA-Isolierung	Seite 34
3.4.1.	Anfertigung der Schnitte	Seite 34
3.4.2.	Entparaffinierung der Schnitte	Seite 34
3.4.3.	Färbung der Schnitte	Seite 35
3.4.4.	DNA-Isolierung aus Gewebe	Seite 35
3.4.4.1.	Entnahme des Tumor- und Kontrollgewebes	Seite 35
3.4.4.2.	Vorgang der Isolierung	Seite 36
3.4.4.3.	Fällung der Proben	Seite 36
3.4.5.	DNA-Isolierung aus Blut	Seite 37
3.4.5.1.	Lymphozyten-Trennung	Seite 37
3.5 .	Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren	Seite 38
3.6.	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	Seite 38
3.6.1.	Primer zur Bestimmung der zu untersuchenden VDR-Polymorphismen	Seite 39

INHALTSVERZEICHNIS

1.	ZUSAMMENFASSUNG	Seite 13
1.1.	Zusammenfassung	Seite 13
1.2.	Summary	Seite 14
2.	EINLEITUNG	Seite 15
2.1.	Fragestellung der Dissertation	Seite 15
2.2.	Das Basalzellkarzinom	Seite 15
2.3.	Das Plattenepithelkarzinom der Haut	Seite 17
2.4.	Struktur und Bedeutung von Vitamin D	Seite 20
2.4.1.	Struktur	Seite 20
2.4.2.	Bedeutung von Vitamin D in der Entstehung und Prävention von multiplen Erkrankungen	Seite 21
2.4.3.	Bedeutung von Vitamin D in der Krebsprävention	Seite 22
2.4.4.	Bedeutung des Vitamin D für die Haut	Seite 23
2.4.5.	Der Vitamin-D-Rezeptor	Seite 23
2.4.6.	Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptors	Seite 24
2.4.7.	Linkage disequilibrium	Seite 25
2.4.8.	Häufigkeiten der VDR-Polymorphismen in verschiedenen Bevölkerungsgruppen	Seite 26
2.4.9.	Bedeutung von Vitamin D und VDR-Polymorphismen für die Entstehung von Hautkrebs	Seite 27
3.	MATERIAL UND METHODIK	Seite 30
3.1.	Verwendete Gewebe	Seite 30
3.1.1.	Basalzellkarzinom- und Plattenepithelkarzinomgewebe	Seite 30

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Universitätsklinikum des Saarlandes
Homburg/ Saar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt)
Fachbereich 4
Universität des Saarlandes

**Genetische Varianten des Vitamin D Rezeptors (VDR) bei
kutanen Plattenepithelkarzinomen und Basalzellkarzinomen**

Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der
Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

2010

vorgelegt von:
Kim Karola Köstner
Geboren am 24. November 1982 in Temeschburg